



219THV-2

République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université SAAD DAHLAB BLIDA



Faculté des sciences Agrovétérinaire et Biologiques  
Département des sciences vétérinaires

PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME  
DE DOCTEUR VETERINAIRE

Thème :

**PRODUCTION ET TRANSFERT D'EMBRYONS  
CHEZ LA RACE OULED DJELLAL**  
« Etat de la population folliculaire et effet de trois doses »

**Réalisé par :**

M<sup>r</sup> BOUCHHER Soufiane

M<sup>r</sup> M'HAMMEDI Abd EL Djallil

**Jury :**

**Président : M<sup>r</sup> DELLALI. R. R. (M.A.T) U.S.D.B**

**Examineur : M<sup>r</sup> HARKAT. S. (C.C) U.S.D.B**

**Promoteur : M<sup>r</sup> GHARBI. S. (C.C) U.S.D.B**

Promotion 2008/2009

## REMERCIEMENTS

*A Monsieur le président : DELLALI. R.R,  
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.  
Hommages respectueux.*

*A Monsieur : GHARBI.S,  
Qui a accepté de diriger cette thèse avec gentillesse et disponibilité.  
Pour l'intérêt porté à notre travail, ses conseils précieux, sa sympathie, sa grande  
patience et ses grandes compétences scientifique mais aussi ses remarquables  
qualités humaines.  
Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude et de notre respectueuse  
considération.*

*A Monsieur : HARKAT. S,  
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,  
Sincère reconnaissance.*

*A Madame : GHARBI. A,  
Pour l'aide technique qu'elle nous a apportée,  
Avec toute notre reconnaissance.*

*A nos collègues : Moustafa, Sadek, Fares, Ayoub, Mourad et Abd Allah, pour leur  
collaboration dans la réalisation de la partie expérimentale,  
Sincères remerciements.*

*SOUFIANE et ABD EL DJALLIL*

## DEDICACE :

*A mes parents,*

*Pour leur amour, leur confiance et pour les valeurs qu'ils m'ont transmises.*

*Qui ont toujours veillé à ce que j'aboutisse dans mes études et ce, par leurs sacrifices inestimables et leur grand support moral et matériel.*

*L'estime que j'ai pour chacun d'entre vous est grande et soyez assurés de ma plus vive reconnaissance.*

*A mes frères Khaled, Houari et Abd El Kader,*

*Pour leur soutien affectif.*

*A mes sœurs Nadjia, Djamila, Souhila, Amina, Djihad et Hmama,*

*Pour leur amour, leur aide et leur soutien quotidien.*

*A Yasser et Ikram,*

*Pour être assez sympas et mignons.*

*A tous mes amis et,*

*en particulier Azzedine, Ahmed, Moustafa, Mohamed, Hamza, Farid, Sid*

*Ahmed, Omar, Fethi, Hafid, Houcine, Yahia, Ayoub, Nabila et Samir,*

*Pour leur soutien et pour tous ces moments inoubliables, vécus et à venir !*

*A tous les membres de DZVET.NET et, en particulier Amine et Hichem,*

*Pour leur aide et leur orientation.*

*A mon binôme Abd El Djallil et toute sa famille.*

*A toute la promotion 2009.*

*Enfin à tous ceux que j'oublie.*

*Bouchher Soufiane*

## DEDICACE :

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère mère et à mon père, pour lesquels je dois reconnaître qu'au fil des années ils m'ont appris le sérieux, la rigueur et la patience, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.*

*A mon cher frère Moaad,*

*A mes chères sœurs Hafidha, Kawthar, Ferdousse, Lina et Hadil.*

*A toute ma grande famille, grands et petits,*

*A Abd El Malek, pour les bons moments qu'on a partagé.*

*A toutes les personnes qui m'ont aidé pour la réalisation de ce travail,*

*A tou(te)s mes ami(e)s et en particulier, Amine, Abd Allah, Moustafa, Hakim, Abd el Djallil, Mahdi, Khaled, Hamdid, Abdou, Abd Elbasset et à tous les Djawarih.*

*A toute la promotion de 5ème année 2009.*

*A mon binôme Sofiane et toute sa famille.*

*Enfin à tous ceux que j'oublie.*

*Mhammedi Abd El Djallil*

# TABLES DES MATIERES

REMERCIEMENT.....	I
DEDICACE .....	II
TABLES DES MATIERES.....	IV
RESUME .....	VIII
SUMMARY.....	IX
الملخص.....	X
LISTE DES TABLEAUX.....	XI
LISTES DES FIGURES.....	XIII
LISTE DES PHOTOS.....	XIV
LISTE DES ANNEXES.....	XV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XVI
INTRODUCTION.....	01

## Partie bibliographique :

### CHAPITRE I : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ LA BREBIS

I. Introduction.....	02
II. Présentation de la race Ouled Djellal .....	02
II.1. Race Arabe Blanche dite Ouled Djellal .....	02
II.2. Description de la race .....	02
II.3. Performance zootechnique de la race Ouled Djellal .....	02
A. Reproduction .....	02
B. Production .....	03
II.4. Les caractéristiques physiologiques et génétiques .....	03
III. Physiologie du cycle œstral chez la brebis et comportement sexuel femelle.....	03
III.1. L'ovogenèse .....	03
III.2. La folliculogenèse .....	03
A. Follicule primordial .....	04
B. Follicule primaire .....	04
C. Follicule secondaire .....	04
D. Follicule tertiaire .....	04
E. Follicule préovulatoire .....	05
F. Follicule de De Graaf .....	05
G. Follicules atrésiques.....	05

III.3. L'ovulation .....	05
III.4. Le cycle sexuel de la brebis .....	06
III.4.1. Les différentes phases du cycle œstrien .....	06
A. La phase folliculaire ou la phase œstrogénique.....	06
A.1. Le pro-œstrus .....	
A.2. L'œstrus (ou chaleurs) .....	06
B. Phase lutéale ou la phase progestéronique.....	06
B.1. Le métœstrus ou post-œstrus .....	06
B.2. Le dicœstrus ou ancœstrus .....	07
III.4.2. Contrôle hormonale du cycle .....	07
A. Hormones hypothalamiques (GnRH) .....	07
B. Hormones hypophysaires (hormones gonadotropes LH et FSH) .....	07
C. Les hormones ovariennes .....	08
D. Les Hormones de l'utérus .....	08
III.5. La fécondation .....	09
III.6. La progestation .....	09
III.7. La segmentation .....	09
III.8. La gestation proprement dite .....	09

## **CHAPITRE II : PRODUCTION ET TRANSFERT D'EMBRYONS *IN VIVO***

I. Introduction.....	10
II. Production et transfert d'embryons <i>in vivo</i> .....	10
II.1. Synchronisation de l'œstrus .....	10
II.1.1. La progestérone et les progestagènes .....	10
II.1.2. Les produits lutéolytiques.....	11
II.2. Superovulation .....	11
II.2.1. Méthodes d'induction de la superovulation .....	11
A. PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) .....	11
B. FSH (Follicule Stimulating Hormone) .....	12
B.1. Les pFSH.....	12
B.2. Les oFSH.....	12
B.3. Rapport FSH/LH .....	13
C. HAP (Horse Anterior Pituitary) .....	13

II.2.2. Traitements d'amélioration de la superovulation (autres gonadotrophines).....	13
II.3. La fécondation.....	14
II.3.1. La saillie .....	14
II.3.2. L'insémination artificielle .....	14
A. L'insémination intra-utérine (IAU).....	14
B. L'insémination exocervicale.....	14
II.4. Collecte d'embryons <i>in vivo</i> .....	15
II.4.1. Technique chirurgicale .....	15
II.4.2. Technique non chirurgicale (laparoscopique).....	15
II.5. Méthode de tri et sélection des embryons .....	16
II.6. Conservation des embryons avant transfert (frais/réfrigéré/congelé).....	17
II.7. Transfert d'embryon.....	17
II.7.1. Transfert chirurgical .....	17
II.7.2. Transfert laparoscopique .....	17
III. Facteurs de variation et limites de la production et transfert d'embryons <i>in vivo</i> ...	18
III.1. Variations liées à l'individu (intrinsèques).....	18
A. L'âge .....	18
B. La race .....	19
C. Le nombre et la taille de follicules .....	19
III.2. Variations liées à l'environnement (extrinsèques) .....	19
A. Stade sexuel .....	19
B. Alimentation .....	19
C. Molécule utilisée .....	20
D. Dose .....	20
E. La répétabilité de la superovulation.....	20
<b>OBJECTIFS</b> .....	<b>21</b>

**Partie expérimentale :**

**CHAPITRE I : EVALUATION DE LA REPONSE OVARIENNE  
AU TRAITEMENT DE SUPEROVULATION :**

I. Lieu et période de l'expérimentation .....	22
II. Matériel et méthodes .....	22
III. Résultats .....	28

## CHAPITRE II : RECOLTE ET TRANSFERT D'EMBRYONS *IN VIVO* :

I. Lieu et période de l'expérimentation.....	35
II. Matériel et méthodes .....	35
III. Résultats .....	39

<b>DISCUSSION</b> .....	44
-------------------------	----

**CONCLUSION**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ANNEXES**



## RESUME

La superovulation et le transfert embryonnaire sont des techniques qui permettent de multiplier le nombre de descendants d'une brebis de haute valeur génétique. L'objectif de la présente étude est d'établir la relation entre la population folliculaire et la réponse ovarienne suite à l'utilisation de différentes doses de FSHp.

Notre travail a concerné 16 brebis, onze brebis donneuses de race Ouled Djellal et cinq brebis de race mixte. Toutes les brebis ont été synchronisées avec des éponges intravaginales à base de progestagènes contenant 40mg de FGA pendant 14 jours.

Les brebis donneuses ont été réparties en trois lots (1, 2, 3) et la population folliculaire de celles-ci a été évaluée sous endoscopie juste avant le début du traitement de superovulation.

Les lots 1 ( $n = 4$ ), lot 2 ( $n = 4$ ) ont reçues respectivement des doses décroissantes de 20 UA et 16 UA de FSHp, enrichis avec de la LHp durant les deux dernières injections. Tandis que le lot 3 ( $n = 3$ ) a reçu une dose totale de 20 UA et un rapport FSHp/LHp constant de (40%) pendant les trois derniers jours du traitement progestatif. Les brebis receveuses ( $n = 5$ ) ont reçues 500 UI d'eCG le jour du retrait de l'éponge vaginale.

Nos résultats montrent que le nombre moyen de follicules ( $< 4\text{mm}$  de diamètre) est de  $8.25 \pm 3.5$ ,  $8.5 \pm 2.88$  et  $6.66 \pm 3.05$  pour les lots 1, 2 et 3 respectivement.

La réponse ovarienne en moyenne pour les lots 1 et 2 est respectivement de  $8 \pm 4.96$  et  $8.5 \pm 5.25$  corps jaunes. Le taux de récupération obtenu après la récolte chirurgicale est de 95,33 et 50 % pour les lots 1 et 2 respectivement. Le taux moyen d'embryons transférables obtenu est de 78,26 %. Tandis que, les brebis du lot 3 n'ont pas répondu au traitement de superovulation.

Le transfert d'embryons chez les receveuses a été réalisé sous endoscopie, le jour de la récolte soit six jour après la saillie. L'examen échographique effectué le 20<sup>ème</sup> et le 35<sup>ème</sup> jour après le transfert, révèle un taux de gestation de 100% et un taux de viabilité de 90%, ce qui est très satisfaisant.

Il en ressort que l'utilisation des doses 20 UA et 16 UA de FSHp chez les brebis Ouled Djellal permet d'obtenir des résultats satisfaisants. En revanche, l'administration d'un rapport FSHp/LHp constant de (40%), ne permet pas d'améliorer les résultats de la superovulation.

### **Mots-clefs :**

Brebis, Ouled Djellal, Follicules, Superovulation, FSHp/LHp, transfert embryonnaire.

## SUMMARY

Superovulation and embryos transplantation are biotechnologies which make it possible to multiply the number of descendants of ewes with high genetic value. Our primary objective aims at determining if the mean number of follicles before stimulation influences the ovarian response and the quality of produced embryos. The effect of three doses of FSHp on the ovarian response is our second objective.

Our work concerned 16 ewes, eleven donors of Ouled Djellal ewes and five receptors of mixed breed ewes. All the ewes were synchronized with intravaginal pessaries containing 40mg FGA during 14 days.

The donors ewes were divided into three batches (1, 2, 3) and the follicular population of each ewe was evaluated under endoscopy right before the beginning of superovulatory treatment. Batch 1 (N = 4), batch 2 (N = 4) respectively received decreasing doses of 20 UA and 16 UA of FSHp, enriched with LHp during the two last injections. While batch 3 (N = 3) received a total dose of 20 UA and a constant FSHp /LHp ratio (40%) during the last three days of the progestagen treatment. Receptors ewes (N = 5) received 500 UI of eCG the day of sponge withdrawal.

The mean number of follicles (< 4mm of diameter) per ewe was  $8.25\pm 3.5$ ,  $8.5\pm 2.88$  and  $6.66\pm 3.05$  for batches 1, 2 and 3 respectively.

The ovarian response is on average of  $8\pm 4.96$  and  $8.5\pm 5.25$  corpora *lutea* for batches 1 and 2 respectively. The recovery rate obtained after surgical recovery is 95,33 and 50% for batches 1 and 2 respectively. We obtained an average rate of 78,26% transferable embryos. While ewes of batch 3 didn't respond to superovulatory treatment.

Embryo transplantation in the receptors ewes realized under endoscopy, the day of recovery or six days after mating. The ultrasound exam carried out the 25th and the 40th day after embryos transfer, reveal a pregnancy rate of 100% and a survival rate of 90%.

We conclude that using 20 UA and 16 UA of FSHp in Ouled Djellal ewes allow achieving satisfactory results. Furthermore, the administration of a constant FSHp/LHp ratio (40%) didn't allow to improve the results of superovulatory treatment.

### **Key words:**

Ewe, Ouled Djellal, Follicles, Superovulation, FSHp/LHp, Embryos transplantation, *in vivo*.

## الملخص:

تسمح لنا تقنيات تكثيف التبويض و نقل الأجنة برفع عدد نواتج النعاج ذات القيمة الجينية العالية. يتمثل هدفنا الأول من هاته الدراسة في البحث عن تأثير عدد الجريبات قبل بدء علاج التكثيف على استجابة المبيض و نوعية الأجنة الناتجة بعد العلاج. أما هدفنا الثاني فيتمثل في دراسة تأثير ثلاث جرعات مختلفة من FSHp على استجابة المبيض.

شملت دراستنا 16 نعجة، 11 واهبة من سلالة "أولاد جلال" و 5 مستقبلات من سلالة مختلطة. خضعت كل النعاج لعلاج التزامن عن طريق اسفنجات مهبلية تحتوي الواحدة منها على 40 مغ من FGA و هذا لمدة 14 يوم.

قسمت الواهبات إلى ثلاث مجموعات (1، 2، 3) و تم حساب عدد الجريبات بالاستعانة بالمنظار الداخلي قبل بدء علاج التكثيف.

تلقت المجموعة 1 (4 نعاج) و المجموعة 2 (4 نعاج) 6 جرعات متنازلة مقدرة بـ: 20 مغ و 16 مغ من FSHp على التوالي، مضاف إليها LHp في آخر جرعتين. بينما تلقت نعاج المجموعة 3 (3 نعاج) 20 مغ من FSHp/LHp بنسبة 40% خلال آخر ثلاث أيام من علاج التزامن. في حين تلقت المستقبلات 500 و.د من eCG يوم نزع الإسفنجات المهبلية.

متوسط عدد الجريبات (أقل من 4مم) لكل نعجة بلغ  $8.25 \pm 3.5$ ،  $8.5 \pm 2.88$  و  $6.66 \pm 3.05$  للمجموعات 1، 2 و 3 على التوالي.

و بلغت استجابة المبيض للعلاج  $8 \pm 4.96$  و  $8.5 \pm 5.25$  جسم أصفر لنعاج المجموعتين 1 و 2 على الترتيب، كما بلغت نسبة استرجاع البويضات 95,33 و 50% للمجموعتين 1 و 2 على الترتيب ، و كانت نسبة الأجنة القابلة للزرع 78,26 % في المتوسط. في حين لم تبد نعاج المجموعة 3 أية استجابة للعلاج.

في الأخير، تم زرع الأجنة في المستقبلات تحت المنظار الداخلي يوم عملية الاسترجاع أي اليوم السادس بعد الوطاء. و أظهر الفحص بالموجات فوق الصوتية و الذي أجري في اليومين الـ 20 و 35 بعد الزرع أن نسبة الحمل تعادل 100% أما نسبة حياة الأجنة فقد بلغت 90%.

كلمات المفتاح : نعجة، سلالة اولاد جلال، جريبات، علاج تكثيف التبويض، FSHp/LHp، نقل الأجنة.

# LISTE DES TABLEAUX

## Partie bibliographique :

<u>Tableau :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
Tableau I :	Effet de 11 jours de traitement par un antagoniste du GnRH chez la brebis Lacaune.....	14
Tableau II :	Résultats de transfert laparoscopique (embryons frais ou congelés).....	18
Tableau III :	Fertilité (%) des brebis mettant bas après transfert laparoscopique ou chirurgical.....	18
Tableau IV :	Réponse superovulatoire et statut folliculaire à la première injection de pFSH.....	19

## Partie expérimentale :

<u>Tableau :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
Tableau V :	Poids, âge et note d'état corporel des donneuses.....	22
Tableau VI :	Poids, âge et note d'état corporel des receveuses.....	22
Tableau VII :	Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 01.....	28
Tableau VIII :	Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 01.....	28
Tableau IX :	Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 02.....	29
Tableau X :	Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 02.....	29
Tableau XI :	Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 03 .....	29
Tableau XII :	Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 03.....	30
Tableau XIII :	La durée moyenne des chaleurs chez les donneuses.....	31
Tableau XIV :	La durée moyenne des chaleurs chez les receveuses.....	31
Tableau XV :	Réponse ovulatoire globale chez les brebis donneuses.....	32
Tableau XVI :	Réponse ovulatoire selon la position de l'ovaire chez les donneuses.....	33
Tableau XVII :	Réponse ovulatoire par ovaire et totale chez les receveuses.....	34
Tableau XVIII :	Taux de récupération des embryons chez les donneuses.....	39
Tableau XIX :	Le nombre moyen des structures récoltées selon la position de la corne..	39
Tableau XX :	Qualité et stade de développement des embryons.....	40

<b>Tableau XXI : Taux des embryons transférables.....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau XXII : Taux de fécondité.....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau XXIII : Taux de gestation.....</b>	<b>42</b>
<b>Tableau XXIV : Taux de viabilité des embryons transférés.....</b>	<b>42</b>
<b>Tableau XXV : Images échographiques présentant une gestation à 20j et une gestation gémellaire à 35 j.....</b>	<b>43</b>

# LISTE DES FIGURES

## Partie bibliographique :

<u>Figure :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
<b>Figure 01 :</b>	Coupe sagittale au niveau d'un ovaire de brebis de race «Ouled Djellal»...	03
<b>Figure 02 :</b>	Principales étapes du développement d'un follicule ovarien.....	05
<b>Figure 03 :</b>	Méthode de collecte chirurgicale des embryons .....	15
<b>Figure 04 :</b>	Collecte par technique laparoscopique avec sonde 3.....	16

## Partie expérimentale :

<u>Figure :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
<b>Figure 05 :</b>	Protocole de synchronisation, superovulation et de collecte des embryons chez les donneuses.....	26
<b>Figure 06 :</b>	Représentation graphique du dénombrement des follicules.....	30
<b>Figure 07 :</b>	Représentation graphique du nombre de corps jaunes et de petits follicules chez les brebis donneuses.....	33

# LISTE DES PHOTOS

## Partie bibliographique :

<u>Photo :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
Photo 01 :	Implants sous-cutanés .....	11
Photo 02 :	CIDR.....	11
Photo 03 :	Eponge vaginale.....	11

## Partie expérimentale :

<u>Photo :</u>	<u>Titre :</u>	<u>Page :</u>
Photo 04 :	Matériel endoscopique.....	24
Photo 05 :	Insertion des deux trocarts.....	25
Photo 06 :	Détection des chaleurs avec un bélier de race Hamra.....	27
Photo 07 :	Saillie des brebis avec un bélier de race Ouled Djellal.....	27
Photo 08 :	Dénombrement des corps jaunes sous endoscopie chez une donneuse.....	32
Photo 09 :	Dénombrement des corps jaunes sous endoscopie chez une receveuse.....	34
Photo 10 :	Injection du milieu de collecte dans la corne utérine et sa récupération dans le flacon stérile.....	37
Photo 11 :	Microscope inversé utilisé pour la recherche des embryons.....	37
Photo 12 :	Technique de transfert des embryons.....	38
Photo 13 :	Morula (a) et Blastocyste (b) de classe 1.....	40
Photo 14 :	Ovocyte non fécondé (a) et morula dégénéré (b) de classe 1.....	41

# LISTE DES ANNEXES

## ANNEXE 1 :

Rendement de production d'embryons chez les brebis superovulées.

## ANNEXE 2 :

Résultats de superovulation obtenus avec différentes doses de pFSH.



## ABRÉVIATIONS

<b>ARN :</b>	Acide Ribonucléique.
<b>CIDR® :</b>	Controlled Internal Drug-Releasing Device
<b>CJ :</b>	Corps Jaune.
<b>COCs :</b>	Complexe Ovocyte – Cumulus.
<b>CO<sub>2</sub> :</b>	Dioxyde de Carbone.
<b>eCG :</b>	equine Chorionic Gonadotropin.
<b>E.S.A.K :</b>	Ecole Supérieure d'Agriculture du Kef, Tunisie.
<b>Et :</b>	Embryons transférable.
<b>FGA :</b>	Acétate de Fluorogestone
<b>FSH :</b>	Follicle Stimulating Hormon.
<b>FSHo :</b>	Follicle Stimulating Hormon ovine.
<b>FSHp :</b>	Follicle Stimulating Hormon porcine.
<b>GnRH :</b>	Gonadotrophin Releasing Hormon.
<b>HAP :</b>	Horse Anterior Pituitary.
<b>HCG :</b>	Human Chorionic Gonadotropin.
<b>IA :</b>	Insémination Artificielle.
<b>IAU :</b>	Insémination Artificielle Intra-utérine.
<b>ICSH :</b>	Interstitial Cell Stimulating Hormon.
<b>IETS :</b>	International Embryo Transfer Society.
<b>LH :</b>	Luteinizing Hormon.
<b>MAP :</b>	Acétate de Médroxyprogestérone
<b>Nb :</b>	Nombre.
<b>PBS:</b>	Phosphate Buffered Saline.
<b>PGF<sub>2</sub><math>\alpha</math> :</b>	Prostaglandine F <sub>2</sub> alpha.
<b>PMSG :</b>	Prégnant Mare Serum Gonadotrophin.
<b>r :</b>	Facteur de corrélation.
<b>Tx :</b>	Taux.
<b>UA :</b>	Unité Armour.
<b>ZP</b>	Zone Pellucide.

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION :

Les ovins représentent la tradition en matière d'élevage en Algérie. Le mouton a toujours été et continue d'être la ressource préférentielle et principale des protéines animales. En effet, la viande ovine assure 61% de la production nationale des viandes rouges (MAP, 2004).

Parmi les principales races locales actuellement connues et dont le standard est bien défini, la race Ouled - Djellal est la plus importante numériquement et la plus intéressante économiquement. Elle représente 8 605 552 têtes du total des ovins, et constitue 50% du cheptel national (Ministère de l'Agriculture, 2005).

La sélection et le développement des races ovines, dont la race Ouled Djellal, sont devenus des priorités. Les biotechnologies de la reproduction, et en particulier la transplantation embryonnaire *in vivo*, en sont un des moyens.

Ces techniques permettent d'accélérer le progrès génétique par une sélection et une multiplication accrue des individus génétiquement remarquables. Le principe de la transplantation embryonnaire *in vivo* consiste à faire produire à une femelle donneuse un nombre élevé d'embryons que l'on puisse transférer chez des femelles receveuses dont le cycle sexuel a été synchronisé à celui de la donneuse.

La superovulation est une méthode d'induction d'une polyovulation chez la brebis pour produire plusieurs ovocytes ou embryons de haute valeur génétique et de ce fait multiplier les descendants des brebis d'élites, elle se pratique par un traitement classique de synchronisation des chaleurs et de stimulation des fonction ovarienne par une variété de préparation hormonale à activité gonadotrope (Baril, 1993).

Les plus appropriés sont les extraits hypophysaires dits «FSH porcine ou FSH ovine» car elles fournissent les meilleurs résultats chez les petits ruminants, comme elles permettent d'avoir un taux élevé d'ovulation et des embryons de très bonne qualité (Brebion et al, 1991). La dose totale de FSH administrée varie de 16 à 20 mg Armour. Cette variation de dose dépend du type de préparation commerciale de FSH à utiliser et des caractères génétiques de la race utilisée (Baril et al, 1993).

Cependant, la réponse au traitement de superovulation reste le facteur limitant essentiel du transfert embryonnaire surtout en termes du nombre d'embryons produits par brebis traitée. Le principal facteur limitant cette réponse est l'état de la population folliculaire ovarienne au moment où débute la stimulation gonadotrope (Gonzalez-Bulnes et al, 2000). C'est à partir de ce constat que peuvent être envisagées de nouvelles approches susceptibles d'être efficaces à terme pour augmenter le nombre de bons embryons produits après un traitement de superovulation.

Afin que la superovulation se fasse avec le maximum d'efficacité et qu'elle soit bien maîtrisée chez les différentes races locales, nous avons voulu par le biais de ce travail établir la relation entre la population folliculaire et la réponse ovarienne suite à l'utilisation de différentes doses de FSHp.

# L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

# CHAPITRE I

PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION

CHEZ LA BREBIS

## **I. Introduction :**

En Algérie, le cheptel ovin représente la plus grande ressource animale du pays. Son effectif varie entre 18.293.300 têtes, dont près de 12.314.998 sont reproductrices (MAP., 2004). Donc il est indispensable de trouver les moyens d'amélioration de la productivité de notre cheptel ovin. Cette amélioration va de pair avec la maîtrise de la reproduction qui constitue la pièce maîtresse de l'efficacité économique de tout élevage (Harkat et Lafri., 2007). Pour cela il est très important de connaître la physiologie de reproduction chez cette espèce pour bien contrôler et maîtriser les différentes techniques d'amélioration de la reproduction :

## **II. Présentation de la race Ouled Djellal :**

### **II.1. Race Arabe Blanche dite Ouled Djellal:**

Introduite avec les invasions Hilaliennes (Hedjaz), elle est de loin la plus importante, en termes d'effectif (environ 58% du cheptel national) (Anonyme 3), et la plus intéressante en termes de productivité. Elle peuple les hautes plaines telliennes et les vastes zones de la steppe. Ce type d'ovin aux membres forts est actuellement en pleine expansion. C'est le véritable mouton de la steppe, le plus adapté au nomadisme et le plus intéressant par ses aptitudes tant physiques que productives (Anonyme 3).

### **II.2. Description de la race:**

C'est un ovin entièrement blanc, à laine et à queue fines. La laine couvre tout le corps jusqu'au genou et même jusqu'au jarret pour certaines variétés. Le ventre et le dessous du cou sont nus pour la majorité des animaux de cette race. Sa tête est blanche avec des oreilles pendantes. Il présente une légère dépression à la base de son nez. Ces cornes spiralées sont de longueur moyenne. Sa taille est haute et sa hauteur est égale à la longueur du tronc. La forme de son corps est proportionnée, sa poitrine est légèrement étroite, les côtes et le gigot sont plats. Ses pattes sont longues solides et adaptées à la marche (Anonyme 5).

### **II.3. Performance zootechnique de la race Ouled Djellal :**

#### **II.3.1. Reproduction :**

Les individus de la race Ouled-Djellal se caractérisent par deux saisons sexuelles favorables à la reproduction : la première en Avril-Juillet et la deuxième en Octobre-Novembre (Chellig, 1992), avec un ancestrus saisonnier en hiver qui est peu intense (Turries, 1976).

Les brebis de la race Ouled Djellal manifestent le premier œstrus entre 8-10 mois et peuvent mettre bas à un âge de 24 mois ce qui correspond à une saillie fécondante effectuée entre 18 et 19 mois. L'agneau à la naissance pèse en moyenne : 3,590 kg et 30 kg à l'âge de 4mois (Chellig, 1992).

Le pourcentage de la prolificité est bas (110%), un seul agneau est le résultat de la portée en générale. Tandis que cette race présente une fécondité de : 95% (Chellig, 1992).

### II.3.2. Production :

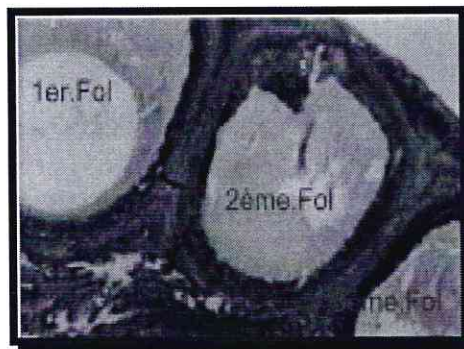
La race Ouled-Djellal est une race rustique qui réagit au moindre soin en s'engraissant avec une facilité remarquable, fournissant une chair rosée, tendre avec un goût apprécié surtout pour le mouton de la steppe (goût Chih : plante aromatique contenant du thymol), un bon rendement de 52.3% et peu de graisse de couverture (Belhadi, 1989).

Sa toison abondante est d'un poids élevé pour le bélier de 2,5Kg et pour la brebis, 1,5Kg. Elle fournit une laine courte mais à fibre fine et résistante, elle contient peu de jarre (Chellig, 1992).

La brebis Ouled Djellal se laisse traire facilement. La traite se fait surtout pendant le printemps. La production est de 70 à 80 kg en 06 mois de lactation (Chellig, 1992).

### II.4. Les caractéristiques physiologiques et génétiques :

L'étude histologique des prélèvements d'ovaires a permis de constater que les races locales (particulièrement la race Ouled-Djellal) sont capables de produire plusieurs follicules mûrs par cycle, et de ce fait sont suffisamment prolifiques pour pouvoir produire des jumeaux, des triplets, des quadruplés et même des quintuplés (Niar, 2001).



**Figure 01:** Coupe sagittale au niveau d'un ovaire de brebis de race « Ouled Djellal » à noter la présence simultanée de trois follicules mûrs de « De Graaf » (Niar, 2001)

## III. Physiologie du cycle œstral chez la brebis et comportement sexuel femelle :

### III.1. Ovogenèse:

L'ovogenèse est l'ensemble des processus qui transforment la cellule germinale initiale ou ovogonie, diploïde ( $2n$  chromosomes), en une cellule apte à être fécondée, l'ovocyte, (ovocyte secondaire ou ovule), haploïde ( $n$  chromosomes). Ce processus est discontinu, il débute au cours de la vie foetale et se termine à la sénilité (Anonyme 2). La maturation de l'ovocyte comprend quatre étapes distinctes relativement indépendantes: La croissance de l'ovocyte, La constitution des réserves d'ARNs, La reprise de la méiose (maturation nucléaire) et Transformation finale de l'ovocyte (maturation cytoplasmique) (Thibault et Levasseur, 1979).

### III.2. Folliculogénèse:

La folliculogénèse est un phénomène continu, s'étend depuis la sortie du follicule primordial de la réserve jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation. Avant d'aborder les différentes étapes que passe le follicule primordial, nous tentons de définir quelques notions relatives à la folliculogénèse :

- **Notion d'une vague folliculaire:** La vitesse de croissance des follicules n'est pas constante, car la courbe de distribution de taille de tous les follicules d'un ovaire à un instant donné montre plusieurs maximums (classes), d'où la notion de vagues folliculaires (Thibault et Levasseur, 1979).
- **Notion de recrutement:** C'est l'entrée en croissance terminale de groupes de follicules gonadodépendants.
- **Notion de sélection:** C'est un processus par lequel parmi les nombreux follicules recrutés, seul un nombre de ces derniers arriveront au stade préovulatoire. Il correspond à la taille où apparaissent les récepteurs en LH sur la granulosa.
- **Notion de dominance:** Correspond à la régression des follicules en croissance (recrutés) et le blocage du recrutement d'autres follicules. Ces deux effets sont exercés par le follicule dominant.

Quand un follicule s'échappe de la réserve des follicules primordiaux et commence sa croissance, celle-ci continuera jusqu'à ce que le follicule subisse l'atrésie ou ovule (Thibault et Levasseur, 1979) :

Le follicule primordial passe par plusieurs étapes à savoir (Cf. Figure 02):

**A. Follicule primordial:** À la naissance la femelle possède un grand nombre de follicules primordiaux (Kolb, 1975). Ils sont très petits, se trouvent à la périphérie de l'ovaire. Leurs noyaux sont appelés: vésicules germinatives. Chaque follicule primordial est formé d'un ovocyte entouré par une seule couche de cellules épithéliales aplaties (Kolb, 1975), Il se transforme en follicule intermédiaire puis en follicule primaire lorsqu'il présente une couche de cellules cuboidales et en follicule secondaire à partir de 2 couches de cellules de *granulosa* (Thibault et Levasseur, 2001).

**B. Follicule primaire:** L'ovocyte en prophase de la méiose est en croissance et entouré d'une couche de cellules folliculaires de forme cubique : les cellules granuleuses. C'est durant cette période que l'ovocyte synthétise, et secrète les glycoprotéines qui donneront naissance à une enveloppe hyaline poreuse : la zone pellucide. Elle est constituée à 95 % de trois glycoprotéines organisés en longs filaments interconnectés, appelés ZP1, ZP2, ZP3. La ZP3 forme avec la ZP2 des filaments qui sont pontés par la ZP1. Seule la ZP3 est reconnue par le spermatozoïde et déclenche la réaction acrosomique (Gayrard, 2007).

**C. Follicule secondaire «antrum»:** Il est entouré de plusieurs couches cellulaires folliculeuses (Kolb, 1975), leurs mitoses sont intenses. L'antrum est un liquide sécrété par les cellules de la granulosa. Il renferme des protéinases et des peptidases qui jouent un rôle important dans l'ovulation (Kolb, 1975). Cette étape se caractérise par une accumulation de réserves cytoplasmiques et un début de constitution de la thèque interne. Quelques observations permettent de penser qu'au cours de la première étape (avant la formation de l'antrum), le déterminisme de la croissance est surtout intra-ovarien, alors qu'au cours de la seconde (à partir de la formation de l'antrum jusqu'à l'ovulation), il est surtout gonadotrope (Thibault et Levasseur, 1979).

**D. Follicule tertiaire :** Le stade tertiaire correspond à la phase de recrutement. Le follicule antral est composé de plusieurs couches de cellules de thèque, d'une membrane basale, d'un épithélium stratifié, de cellules de la *granulosa* et d'un complexe ovocyte-cumulus (COCs). La zone pellucide entourant l'ovocyte est maintenant devenue complète (Gayrard, 2007).



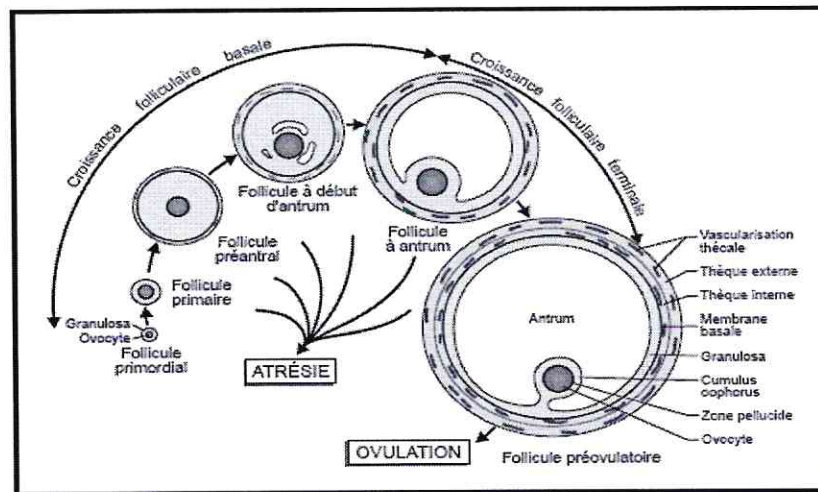
**E. Follicule préovulatoire :** Les mitoses diminuent au niveau des cellules folliculeuses. Le follicule s'approche de l'apex (surface de l'ovaire). Les thèques s'amincissent et les cellules du *cumulus oophorus* commencent à se dissocier (Anonyme 2).

**F. Follicule de De Graaf :** C'est un follicule mûr qui subit plusieurs modifications parmi elles: augmentation de volume et disparition des mitoses. L'ovocyte n'est entouré que d'une seule couche de cellules folliculeuses : *la corona radiata*.

La thèque interne est une glande endocrine à prédominance cellulaire, contenant des capillaires et des cellules thécales stéroïdogènes stimulées par la LH. Le follicule de De Graaf, réceptif aux hormones sexuelles de l'hypophyse, peut alors devenir sécrétoire (Vaissaire, 1977).

La thèque externe à prédominance fibreuse (comprenant des fibres conjonctives, des cellules mésenchymateuses et des vaisseaux) est très mince (Vaissaire, 1977), ses cellules sont porteuses de récepteurs à la FSH (Gilbert et al, 2005).

**G. Les follicules atrésiques:** En effet, tous les follicules qui ont entamé leur croissance avant la puberté sont voués à l'atrésie (dégénérescence par apoptose) avant d'atteindre le stade antral. Il y a donc une perte très importante de cellules germinales qui réduit considérablement le stock non renouvelable de cellules germinales disponibles au début de la puberté pour assurer la reproduction de l'espèce (Gayrard, 2007).



**Figure 02:** Principales étapes du développement d'un follicule ovarien (Monniaux et al, 1999).

### III.3. L'ovulation :

C'est un phénomène mécanique de rupture de la paroi folliculaire qui est déclenché par le pic de LH. Cette décharge ovulatoire est suivie d'un changement profond de la stéroïdogènes et d'une élévation de la synthèse des prostaglandines dans le follicule. L'ovulation se produit brutalement, sous la pression du liquide folliculaire et par suite de l'activation d'une enzyme protéolytique située dans la paroi (sous l'influence de la FSH et de la LH) (Stolkowski, 1974).

L'ovulation est spontanée chez la brebis (E.S.A.K, 1998), elle est simple ou multiple (Soltner, 2001) et libère 1 à 3 ovocytes. Elle se produit dans la 2<sup>ème</sup> moitié de l'œstrus entre la 20<sup>ème</sup> (Craplet et Thibier, 1980) et la 30<sup>ème</sup> ou la 40<sup>ème</sup> heure après le début de rut. L'ovule non fécondé se dégrade au niveau de l'oviducte (Craplet et Thibier, 1980).

### **III.4. Le cycle sexuel de la brebis :**

Pendant la saison de reproduction, l'activité sexuelle se manifeste par le fait que les brebis viennent régulièrement en chaleurs. L'intervalle entre chaleurs constitue le cycle sexuel qui comprend le cycle ovarien et le cycle œstrien. Ce dernier correspond à l'intervalle entre deux œstrus où entre deux périodes de chaleurs consécutives (Dudoueut, 2003).

Les cycles durent en moyenne 17 jours (Broers, 1994 ;Dudoueut, 2003), avec une variabilité de 14 à 19 jours (Broers, 1994). Les chaleurs sont assez longues de 2 à 3 jours (Soltner, 2001). Cependant, en période de transition entre l'anoestrus et la saison sexuelle (à la fin de l'été), des cycles courts de moins de 12 jours sont fréquemment observés (Broers, 1994).

#### **III.4.1. Les différentes phases du cycle œstrien:**

##### **A. La phase folliculaire ou la phase œstrogénique :**

**A.1. Le pro-œstrus:** Il dure 3 à 4 jours, et représente la période de transition entre la fin d'un cycle et le début du cycle suivant (Broers, 1994).

##### **A.2. L'œstrus (ou chaleurs):**

C'est la période pendant laquelle la femelle accepte le chevauchement, elle est hormonodépendante (E.S.A.K, 1998). La durée de l'œstrus varie avec : l'âge de l'animal (plus longue chez les adultes que chez les antenaises et les agnelles), la race (les races prolifiques ont des chaleurs plus longues), la saison (maximum en octobre-novembre), le climat (les températures élevées sont défavorables), l'alimentation (flushing) (Dudoueut, 2003), le taux d'ovulation, la présence du mâle (E.S.A.K, 1998), les individus (Soltner, 2001), le statut physiologique (lactation) et l'état corporel (Broers, 1994).

La durée des chaleurs varie de 18 à 72 heures (Broers, 1994), elles peuvent durer plus longtemps en cas d'ovulation double ou multiple (Kolb, 1975) et se manifestent en plus grand nombre de minuit à midi que de midi à minuit (Craplet et Thibier, 1980). L'ovulation survient 24 heures après le pic de LH (E.S.A.K, 1998).

La détection des chaleurs est très difficile chez l'espèce ovine (Broers, 1994), (Dudoueut, 2003) puisque les manifestations de l'œstrus sont peu visibles et passent facilement inaperçues (Kolb, 1975), elle nécessite absolument le bélier. La recherche et l'acceptation du bélier sont beaucoup plus constatées chez les brebis que chez les agnelles, d'où l'intérêt qu'il y a séparation entre les brebis et les agnelles pour la lutte (Soltner, 2001). La tête est tournée vers le mâle si celui-ci se trouve derrière elle ; des bêlements plus fréquents si le mâle est absent. La brebis va présenter des mouvements rapides de la queue et elle reste immobile au chevauchement (Broers, 1994).

##### **B. Phase lutéale ou la phase progestéronique:**

Cette phase dure de 14 à 16 jours. L'ovocyte se trouve dans l'oviducte où aurait lieu la fécondation. Dans ce cas le corps jaune persiste tout en produisant constamment de la progestérone (Dudoueut, 2003).

##### **B.1. Le métœstrus ou post-œstrus:**

C'est la période de transformation métaplasique des follicules rompus en corps jaune fonctionnel. Elle dure 2 jours (Vaissaire, 1977). La femelle retrouve son calme (Zidane, 1999).

## B.2. Le diœstrus ou anœstrus:

C'est la période de régression du corps jaune (Menouba, 2003) c'est-à-dire la période de repos sexuel qui correspond à la lutéolyse. Elle est de l'ordre de 10 à 12 jours (Vaissaire, 1977).

### III.4.2. Contrôle hormonal du cycle :

#### A. Hormones hypothalamiques (GnRH) :

Le rôle principal de l'hypothalamus est la sécrétion de GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormon) (Gayrard, 2007) initiateur et régulateur fondamental de la fonction reproductrice chez les animaux (Boukhliq, 2005). Le mode d'action de la GnRH est doublé; d'une part elle entraîne une libération rapide et transitoire des gonadotrophines (FSH, LH), et d'autre part, elle exerce une stimulation à long terme sur la synthèse de ces hormones (Caraty et al, 1997). Donc elle est déversée dans les capillaires du système porte hypothalamo-hypophysaire, pour gagner son site d'action, l'hypophyse (Hansel et Convey, 1988).

#### B. Hormones hypophysaires (hormones gonadotropes LH et FSH) :

##### ➤ FSH (Follicle Stimulating Hormon) :

C'est une glycoprotéine, synthétisée par l'antéhypophyse, responsable de la croissance des follicules ovariens (Ruckebusch, 1981), c'est-à-dire elle assure la croissance d'un follicule sélectionnable en follicule préovulatoire. Aussi, elle prépare l'action de LH par fragilisation de la membrane du follicule de De Graaf et stimule la sécrétion d'œstrogènes (Rientort, 1995) par les cellules de la *granulosa* (Gayrard, 2007). La sécrétion de FSH existe sous deux formes, une sécrétion basale continue tout au long du cycle et une sécrétion cyclique caractérisée par les pics au moment des chaleurs et l'ovulation (Dupouy et al, 1992). Cette sécrétion de FSH est inhibée par l'inhibine, les follistatines (peptides sécrétés par les cellules de la *granulosa*) et l'œstradiol (Gayrard, 2007).

##### ➤ LH (Luteinizing Hormon) :

La LH ou ICSH (interstitiel cell stimulating hormone) est une glycoprotéine sécrétée par l'antéhypophyse, elle a une action complexe sur l'ovaire (Rientort, 1995) :

- La LH est une hormone lutéinisante, qui provoque l'ovulation. Elle est responsable de la transformation du follicule mûr en corps jaune (Martal, 1985).
- Elle agit sur le follicule préovulatoire en diminuant le taux de récepteurs à la FSH,
- Elle déclenche la reprise de la méiose, et sous son influence le follicule donne des œstrogènes et le corps jaune donne de la progestérone (Rientort, 1995).

En ce qui concerne son mode de sécrétion, une sécrétion tonique continue tout le long du cycle sexuel et une sécrétion cyclique (pic de LH) qui vient à la fin de chaque cycle œstral pour induire l'ovulation et la lutéinisation (Dupouy et al, 1992). Le pic de LH apparaît entre 3 et 17 heures après le début de l'œstrus et la durée du pic est de 1 à 10 heures (Craplet et Thibier, 1984).

### C. Les hormones ovariennes :

#### ➤ Les œstrogènes :

L'œstrogène est une hormone de nature lipidique (fabriquée à partir du cholestérol) (Boukhliq, 2005). Synthétisée sous l'effet de LH par les cellules de thèque interne (Derivaux et Ectors, 1989) et par les cellules interstitielles particulièrement pendant la croissance folliculaire terminale (Boukhliq, 2005).

Sa sécrétion dans le plasma sanguin de la veine ovarienne est sous le contrôle direct de la pulsativité de la LH (Gayrard, 2007). Avant l'ovulation, le follicule préovulatoire sécrète d'importantes quantités d'œstradiol 17bêta qui peuvent être détectées dans le plasma de la circulation générale. Les œstrogènes sont également sécrétés par l'unité foeto-placentaire (Boukhliq, 2005). Son rôle selon Gilles et al (2006) est :

- L'induction du pic préovulatoire de LH et de FSH au début de l'œstrus, par la mise en jeu d'une rétroaction positive sur l'axe hypothalamo-hypophysaire;
- Le déclenchement direct du comportement sexuel femelle avant l'ovulation.
- Modification de l'activité des cellules utérines pour faciliter le transport des spermatozoïdes et préparer l'utérus à l'action de la progestérone;
- Contrôle de la synthèse et libération de la PGF2 $\alpha$  par l'utérus;
- Rétroaction négative sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (en dehors de la période préovulatoire).

#### ➤ La progestérone :

La progestérone est sécrétée essentiellement au niveau des ovaires par les cellules lutéales mais elle peut être sécrétée en faibles quantités par les cellules granuleuses des follicules ovariens (Gayrard, 2007) elle est également sécrétée par l'unité foeto-placentaire. Sa sécrétion est sous le contrôle de la LH (Boukhliq, 2005). Les niveaux les plus élevés de la progestérone pendant la phase lutéale sont associés à un taux d'ovulation plus élevé (Cahill et al, 1981).

Elle conditionne :

- Le blocage des ovulations cycliques par rétroaction négative sur l'axe hypothalamo-hypophysaire;
- La sensibilisation du système nerveux à l'action des œstrogènes pour l'induction du comportement d'œstrus;
- Le début et le maintien de la gestation. Donc, sa diminution aboutit à l'avortement ou à l'accouchement (Roux, 1986).

### D. Les Hormones de l'utérus :

#### ➤ La prostaglandine :

La prostaglandine F2alpha de faible poids moléculaire (environ 300 Daltons) n'est pas un stéroïde, mais un dérivé de l'acide arachidonique (Boukhliq, 2005). Elle est sécrétée par l'utérus en réponse à l'ocytocine d'origine lutéale (Gayrard, 2007). La PGF2 $\alpha$  présente dans le follicule préovulatoire, permette la rupture de la paroi du follicule au moment de l'ovulation.

Elle déclenche la régression du corps jaune ou lutéolyse et sa disparition se produit vers la fin du cycle, si la femelle n'est pas gestante (Boukhliq, 2005).

La PGF2 $\alpha$  par sa double action: lutéolytique (lyse du corps jaune) et musculotrope, permet le contrôle du cycle (maîtrise), de la gestation (avortement) et de la parturition (induction) (Fontaine et Cadore, 1995).

### **III.5. La fécondation:**

C'est la fusion des gamètes mâle et femelle après une succession d'évènements dans les voies génitales femelles (Kayouach, 2004). Cette fusion aboutit à la formation d'une cellule unique : le zygote (ou embryon de stade 1 cellule) (Menouba, 2003), elle se fait 3 à 4 heures après l'ovulation.

### **III.6. La progestation:**

La progestation dure environ 20 jours. Pendant cette période l'œuf mène une vie libre (Dudoueut, 2003) tout en effectuant une migration, une répartition dans l'utérus et une segmentation. La nidation ou l'implantation marque la limite entre deux phases de la gestation: la progestation et la gestation proprement dite (Vaissaire, 1977).

### **III.7. La segmentation:**

C'est le processus de division de l'œuf en nombreuses cellules (blastomères) qui forme la morula (Vaissaire, 1977). Dans la morula on distingue 2 types de cellules inégaux:

Des petites cellules à la périphérie : Micromères et des grandes cellules centrales : Macromères (Kayouach, 2004). La morula migre vers l'utérus par trois mécanismes à savoir les mouvements des cils de l'épithélium tubaire, le flux du liquide péritonéal causé par les mouvements péristaltiques de la musculature de la trompe (Vaissaire, 1977). Au stade blastula, les Micromères ont donné une couche périphérique, annexielle de l'œuf (couche trophoblastique ou trophoblaste), tandis que les macromères ont constitué le bouton embryonnaire. A ce stade cet embryon est désigné par le terme de blastocyste (Vaissaire, 1977). Cette période de pré-implantation dure environ 3 semaines chez la brebis (Menouba, 2003).

### **III.8. La gestation proprement dite :**

C'est l'état d'une femelle qui porte son ou ses petits depuis la nidation jusqu'à la parturition (Vaissaire, 1977) avec des transformations intéressantes non seulement le tractus génital (y compris la mamelle) mais aussi la totalité de l'organisme (Kolb, 1975). La durée varie avec la race, la parité et la taille de la portée (Chemineau et al, 1999), elle est en moyenne de 145-146 jours. Mais pour une même race, elle peut varier de 8 jours d'une brebis à l'autre (Anonyme 1).

*En conclusion, une parfaite connaissance de la physiologie de la reproduction chez la brebis et surtout le mode d'action des différentes gonadotrophines ainsi que leur chronologie d'apparition, permet de mieux comprendre et particulièrement de mieux maîtriser le contrôle artificiel du cycle et de la superovulation.*

# CHAPITRE II

PRODUCTION ET TRANSFERT

DES EMBRYONS IN VIVO

## I. Introduction :

Les techniques de reproduction assistée ont été développées quelle que soit l'espèce afin que les animaux génétiquement remarquables puissent engendrer une descendance plus grande que par reproduction naturelle. Ces techniques (synchronisation de l'œstrus, superovulation, insémination artificielle, transfert embryonnaire *in vivo* ou *in vitro*, et enfin clonage) permettent une accélération du progrès génétique en limitant le taux de sélection. La transgénèse, autre biotechnologie de la reproduction, permet la création d'animaux phénotypiquement intéressants (Baldassarre et Karatzas, 2004). Nous aborderons dans ce chapitre que les techniques de production et transfert des embryons *in vivo*.

## II. Production et transfert d'embryons *in vivo*:

Les techniques de production et transfert d'embryons comportent les étapes suivantes :

- 1- Synchronisation des chaleurs.
- 2- Induction de la superovulation.
- 3- Récolte d'embryons.
- 4- Tri et sélection des embryons.
- 5- Conservation (conditionnement) d'embryons.
- 6- Transfert d'embryons.

### II.1. Synchronisation de l'œstrus :

Deux agents sont fréquemment utilisés pour synchroniser l'œstrus dans les protocoles de superovulation chez les petits ruminants :

#### II.1.1. La progestérone et les progestagènes:

La progestérone ou ces analogues, dits, progestagènes (Gordon, 1975). Ces derniers sont administrés soit oralement, ou bien sous forme d'implants sous-cutanés (Cf. photo 01), ou par moyens des CIDR® (Controlled Internal Drug-Releasing Device) (Cf. photo 02) et des éponges intravaginales (Cf. photo 03) (Hansel et Convey, 1983), d'autres voies sont possibles comme l'injection ou encore l'addition dans l'aliment (Courot et Volland-Nail, 1991)

De plus, différents principes actifs sont retrouvés selon les spécialités : les CIDR® contiennent de la progestérone pure sous forme d'un sel de silicate, les implants sous-cutanés contiennent du norgestomet et enfin les éponges vaginales peuvent contenir de l'acétate de fluorogestone (FGA) ou d'acétate de médroxyprogestérone (MAP) (Whitley et Jackson, 2004).

Ces produits exercent un feed-back négatif sur la sécrétion de LH et donc l'ovulation est inhibée (Hansel et Convey, 1983). Cependant, au retrait du traitement de progestérone ou de ses analogues, la croissance folliculaire, l'œstrus et l'ovulation sont obtenus au bout de 2 à 8 jours (Gordon, 1975; Hansel et Convey, 1983). L'ovulation est normalement déclenchée 54 h après la fin du traitement (Walker et al, 1986) et l'apparition de l'œstrus se fait dans les 48 h qui suivent le retrait (Casamitjana, 2006).



Photo 01: Implants sous-cutanés.



Photo 02: CIDR®.



Photo 03: Eponge vaginale.

### II.1.2. Les produits lutéolytiques :

Il est possible de synchroniser l'œstrus à travers la lutéolyse des corps jaunes. La prostaglandine (PGF $2\alpha$ ) et ses analogues possédant une action lutéolytique (Ishwar et Memon, 1996) donc la synchronisation des ovulations est basée sur le fait que l'ovulation se produit environ 60 h après la chute des taux de progestérone. Si les brebis sont en cycle, on peut arrêter la sécrétion de progestérone en administrant des (PGF $2\alpha$ ) : l'ovulation est déclenchée 60 à 70 h après (Tibary et Manar, 1988).

L'utilisation des prostaglandines se réalise uniquement sur des brebis cyclées ou ayant eu une phase progestative (Casamitjana, 2006) c'est à dire les brebis qui sont en début ou en fin de cycle ne répondent pas au traitement (Tibary et Manar, 1988). Deux injections à 10 ou 14 jours d'intervalle de 4 mg de PROSOLVIN® permettent de synchroniser l'œstrus 36 à 48 h après l'injection. Après, elle permet un retour en chaleurs de 90% des brebis synchronisées (Casamitjana, 2006).

### II.2. Superovulation:

Le taux d'ovulation des femelles peut être légèrement augmenté pour améliorer leur prolificité naturelle, ou fortement stimulé (c'est la superovulation) pour produire soit un grand nombre d'ovocytes en vue de la fécondation *in vitro*, soit plusieurs embryons pour les programmes de transfert d'embryons (Courot et Volland-Nail, 1991).

#### II.2.1. Méthodes d'induction de la superovulation :

Différentes molécules sont utilisables pour la stimulation folliculaire :

##### A. PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) :

La PMSG (maintenant nommée eCG pour equine Chorionic Gonadotropin), c'est la première gonadotrophine utilisée pour obtenir une superovulation (Cognié et Baril, 2002). C'est une gonadotrophine d'origine placentaire, sécrétée par les cupules endométriales de la jument gravide; sa demi-vie dans l'organisme est de l'ordre de 4 à 6 jours chez la vache (Del Campo et al, 1985) et d'une vingtaine d'heures chez la brebis (Lyngset, 1964). L'activité de cette molécule est, à la fois, LH et FSH (Mori et Kano, 1984).

La PMSG est administrée par voie intramusculaire en une seule injection de 1000 à 2000UI, un ou deux jours avant le retrait de l'éponge. Cependant, cette gonadotrophine présente deux inconvénients : d'une part, la forte activité LH d'eCG peut induire une activation prématurée de la méiose ovocytaire, et d'autre part, l'action prolongée d'eCG due à sa longue demi-vie (plusieurs jours) provoque des modifications des événements endocriniens défavorables au transport des gamètes dans les voies génitales. Ces effets conjugués peuvent expliquer les faibles performances obtenues avec eCG (2 à 3 embryons



transférables en moyenne par donneuse) (Cognié et Baril, 2002).

Pour améliorer ces résultats on ajoute généralement de la GnRH ou de l'HCG à ce traitement, ce qui permet d'augmenter de 1 ou 2 points le taux d'ovulation (Cahill et al. 1981). Cependant, une combinaison de PMSG et FSH est également efficace pour augmenter le nombre des ovulations chez la brebis (Courot et Volland-Nail, 1991).

### **B. FSH (Follicle Stimulating Hormon) :**

La FSH est l'hormone de croissance folliculaire d'origine hypophysaire, c'est une glycoprotéine de taille moyenne (30000 Daltons) pauvre en acide sialique (5%) ; sa demi-vie est donc courte par rapport à celle de la PMSG : 4 à 6 h chez la vache (Del Campo et al, 1985) et seulement 20 à 70 minutes chez la brebis (Akbar et al, 1974).

Leur concentration atteint une valeur maximale 3 h après leur injection et ne sont plus décelables 12 h après l'injection. Leur utilisation répétée n'entraîne pas la formation d'anticorps contrairement à la PMSG. La dose recommandable pour les ovins et les caprins variée entre 16 et 20 mg Armour (Brebion et al, 1992). L'expression des chaleurs aura lieu 16 à 48h après le retrait de l'éponge (Gibbons et Cueto, 1995) et les premières ovulations sont observées en moyenne  $58,4 \pm 5,6$  h après le retrait de l'éponge et environ 6 h s'écoulent entre la première et la dernière ovulation (Evans et Armstrong 1984).

Plusieurs préparations de FSH étaient utilisées dans les dernières années pour induire la superovulation chez la brebis (Armstrong et Evans 1983). Ces préparations utilisées dans les protocoles de superovulation sont:

**B.1. Les pFSH :** extraites de broyats d'hypophyses de porc; le porc étant l'espèce la plus intéressante pour la préparation d'extraits pituitaires du fait de la grande disponibilité en hypophyse et surtout de leur teneur élevée en hormones. Les différentes pFSH varient en fonction de leur procédé d'extraction et surtout de leur degré de purification, c'est-à-dire leur rapport FSH/LH (Lefeuvre, 1992). Elles se présentent donc sous de nombreux types de préparations commerciales :

- **FSH « INRA » :** Caractérisée par une méthode de purification qui permet l'obtention d'un produit dont le rapport FSH/LH peut être modulé et fixé (Driancourt et al, 1988), Cette préparation est commercialisée sous la forme de 3 flacons (le premier contenant 32 UA de FSH en poudre, le second contenant la LH, pour faire un rapport FSH/LH=1, et le troisième contenant le solvant).
- **FSH BECKERS ou STIMUFOL® :** Elle présente la particularité d'être particulièrement purifiée (Beckers et al, 1977) : la FSH contenant moins de 0,5% de LH, est séparée de la LH également purifiée. Elle est fournie prête à l'emploi, c'est-à-dire dans des flacons contenant les différents rapports FSH/LH nécessaires aux besoins de l'expérience.
- **Follitropin® :** Commercialisée au Canada et contient moins de 5% de LH (Armstrong et Opawsky, 1986), Elle se présente sous la forme d'un flacon de 20 mg de poudre lyophilisée accompagnée de 20 ml de solvant.

**B.2. Les oFSH :** Se sont des extraits de broyats d'hypophyses d'ovins. La réponse ovulatoire à l'oFSH peut varier avec les préparations. Cette molécule présente l'avantage que les traitements répétés ne sont pas associés avec une diminution significative de la réponse ovulatoire (Baril et al, 1993).

### B.3. Rapport FSH/LH :

Dans les conditions physiologiques, ce rapport évolue au cours du cycle, avec une diminution à l'approche de l'ovulation (Bono et al, 1983). Par ailleurs, si le rapport FSH/LH est trop faible par excès de LH, l'ovulation se trouve prématurée et les résultats sont moins bons (Murphy et al, 1984) ; inversement, si le rapport FSH/LH est trop faible par manque de FSH, l'œstrus est retardé et les résultats baissent (Gonzalez, 1984). L'activité FSH doit nettement prédominer sur celle de la LH en début de traitement (chez la brebis Lacaune un rapport FSH/LH < 2 affecte la qualité embryonnaire); un enrichissement en LH semble en revanche nécessaire en fin de traitement (FSH/LH < 0,4), conditionnant l'induction des ovulations (Cognié et al, 1986).

Il convient donc, pour avoir les meilleurs résultats possibles, de bien contrôler l'évolution de ce rapport jusqu'à l'ovulation (Cognié et al, 2003).

Des études précédentes ont montrés qu'une évolution décroissante du rapport FSH/LH permettait d'obtenir de meilleurs résultats à contre saison. Cognié et al (1986) Proposent un protocole avec un rapport diminuant de 56/10 à 14/94 sur 3 jours : le taux de brebis ovulant passe de 1 sur 10 avec un traitement normal, à 10 sur 11 avec ce protocole.

D'autres auteurs, préfèrent modifier le rapport uniquement au moment de la dernière injection, passant d'un rapport de 8 à 0.4 ou 0.13 (Brebion et al, 1992).

### C. HAP (Horse Anterior Pituitary) :

C'est un extrait pituitaire équin qui a donné des résultats intéressants en superovulation caprine (Armstrong et Evans, 1983), mais sa difficulté d'obtention est responsable de sa moindre compétitivité par rapport à la PMSG ou la FSH.

#### II.2.2.Traitements d'amélioration de la superovulation (autres gonadotrophines) :

Elles sont généralement utilisées en association avec les substances précédemment citées, elles potentialisent l'action de ces dernières :

- **GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormon) :**

C'est une décapeptide d'origine hypothalamique qui stimule la sécrétion de FSH et LH par l'hypophyse. Utilisée seule, une injection de GnRH peut induire l'ovulation dans une population de brebis cyclées, par sécrétion de LH (Ricordeau et al, 1984).

L'inhibition des sécrétions endogènes de LH et FSH par administration d'un analogue de GnRH, permet de doubler le nombre de follicules de 1 à 2 mm avant le traitement FSH, la réponse ovulatoire est augmentée de 50% et le nombre d'embryons transférables par brebis traitée (10 embryons) est doublé par rapport aux donneuses superovulées en l'absence de prétraitement (Brebion et Cognié, 1989 ; Cognié et al. 2003).

- **Anti GnRH :**

L'utilisation de ces produits se fait par un traitement de 11 jours avant l'administration de FSH (Brebion et al, 1992) (Cf. Tableau I). Ils peuvent êtres également utilisés avec une injection unique 12 h après le retrait des éponges (Baril et al, 1996); dans ce cas les anti GnRH sont chargés de retarder le pic de LH, sans l'inhiber (ce qui permet de prolonger la phase de recrutement et donc d'augmenter le nombre de follicules recrutés), jusqu'à l'injection de LH pour provoquer de façon exogène le pic préovulatoire.

**Tableau I:** Effet de 11 jours de traitement par un antagoniste du GnRH chez la brebis Lacaune (Brebion et al, 1992).

	GnRH-Antag (n = 14)	Témoins (n = 13)
Nb de follicules de 1-2mm avant FSH	24.7	12.5
Nb d'ovulation après FSH (m ± sem)	19.2 ± 3.4	9.9 ± 1.6
Taux de collecte des embryons (%)	67.5	66.0
Nb d'embryons viables (%)	10.6 (81)	6.1 (92)

### II.3. La fécondation :

Les méthodes qui peuvent être utilisées sont la saillie naturelle ou l'insémination artificielle avec du sperme frais ou congelé.

#### II.3.1. La saillie :

La lutte avec monte en main est utilisée après la synchronisation des chaleurs de façon à s'assurer que chaque brebis a été effectivement saillie; chaque brebis est saillie 2 fois, en saison sexuelle : 10 brebis ou 7 à 8 agnelles par béliers par jour puis repos de 3-4 jours et 5 brebis ou 3 à 4 agnelles par bélier par jour puis un repos de 7 jours en contre-saison (Ouattara, 2001 ; Hanzen, 2008).

Il faut signaler que le passage des spermatozoïdes à travers le cervix est perturbé chez la brebis superovulée (Evans et Armstrong 1984), Un œuf met 72 h pour parcourir l'oviducte où la fécondation a lieu. La superovulation accélère la descente qui ne dure alors que 48 h (Anonyme 1).

#### II.3.2. L'insémination artificielle :

L'utilisation du sperme congelé est couramment pratiquée chez les bovins et les caprins mais elle reste encore assez limitée chez les ovins où le sperme est plus difficile à congeler. Cependant, pour les ovins l'IA s'est développée dans certains pays grâce à l'usage de la semence fraîche diluée : elle est utilisée immédiatement (moins d'une demi-journée après la récolte) chez des brebis synchronisées (Courot et Volland-Nail, 1991). On utilise deux techniques d'insémination chez la brebis superovulée à savoir:

##### A. L'insémination intra-utérine (IAU):

Chez les ovins la nécessité d'inséminer les femelles avec un grand nombre de spermatozoïdes est une limite importante au développement de l'IA. Pour cette espèce, plusieurs chercheurs ont tenté d'inséminer les brebis directement dans la cavité utérine en réduisant de manière importante le nombre de spermatozoïdes déposés, tout en maintenant un niveau élevé de fécondation. Cette technique réalisée sous contrôle laparoscopique permet d'obtenir un pourcentage élevé d'embryons viables quel que soit le niveau de réponse (Brebion et al, 1992).

##### B. L'insémination exocervicale:

Dans l'insémination exocervicale la semence est déposée par voie vaginale au niveau du col de l'utérus grâce à un spéculum muni d'un éclairage et à un pistolet d'insémination classique (Casamitjana, 2006).

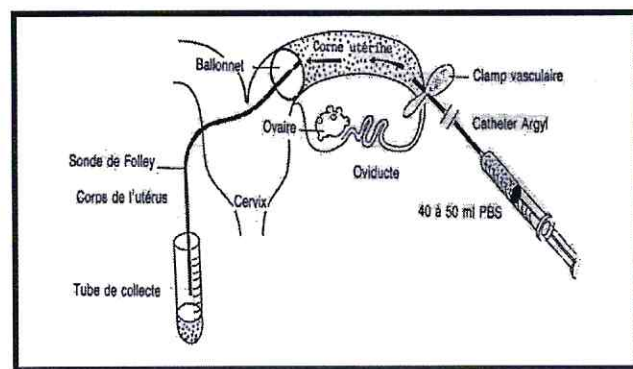
#### II.4. Collecte d'embryons *in vivo* :

Les embryons sont généralement recueillis aux stades «morula compactée» à «blastocyste» (80-300 cellules) correspondant à J6-J7 chez la brebis et J6.5-J7.5 chez la chèvre, J 1 étant le jour de la fécondation (Brebion et al, 1992). Chez les petits ruminants, la difficulté de franchissement du cervix (Kraemer, 1989) impose raisonnablement une approche transpéritonéale. De nombreuses variantes techniques sont possibles pour parvenir à perfuser chaque corne utérine avec 40 ml de milieu PBS dans le sens antégrade ou rétrograde. Le véritable choix qui s'offre au praticien porte entre la laparotomie classique et une technique moins invasive sous contrôle laparoscopique (Brebion et al, 1992).

##### II.4.1. Technique chirurgicale :

La laparotomie médioventrale permet de collecter aisément 72% d'embryons (taux de collecte à J6) par rapport aux CJ. Elle est aussi très accessible étant donné le peu de matériel qu'elle nécessite (Youngquist, 1997).

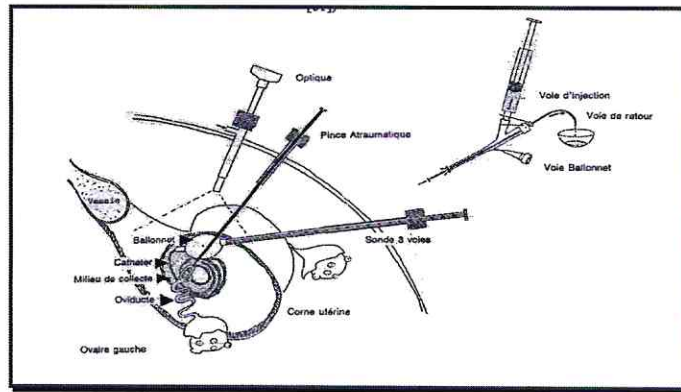
Les brebis sont placées à la diète hydrique un minimum de 18 à 24 h précédant la collecte. Pour la réalisation de cet acte chirurgical, la tranquillisation de l'animal est nécessaire. L'animal une fois tranquilisé est tondu au niveau de la paroi abdominale ventrale, cranialement à la mamelle. On le place alors en décubitus dorsal avant de le préparer de façon aseptique. L'incision de laparotomie se fait au niveau de la ligne blanche juste en avant de la mamelle. Cette incision doit être d'une longueur suffisante pour extérioriser les 2 cornes utérines. Une corne utérine est ponctionnée juste après la bifurcation et on y introduit une sonde de Foley pédiatrique. Le ballonnet de cette sonde est gonflé à l'aide d'une faible quantité de milieu de collecte à 37°C. Puis à l'aide d'un cathéter introduit au niveau de la jonction utéro-tubaire, on injecte 40 ml de milieu de collecte que l'on récupère par la sonde de Foley. On renouvelle ensuite l'opération sur l'autre corne utérine. Après suture en deux plans par des points simples de la ligne blanche et de la peau, une antibioprophyllaxie est mise en place (Youngquist, 1997). (Cf. Figure 03).



**Figure 03:** Méthode de collecte chirurgicale des embryons (Vallet et al, 1991).

##### II.4.2. Technique non chirurgicale (laparoscopique):

Cette technique fut développée afin d'améliorer les possibilités de répétition de la collecte chez les femelles donneuses permanentes (Baril et al, 1993). La collecte laparoscopique, de maîtrise plus délicate, offre un rendement moyen de 62%. Elle est basée sur presque la même méthode que la collecte chirurgicale, mais un peu différente car celle-ci est réalisée grâce à l'observation des viscères par endoscopie dans l'abdomen du sujet (Vallet et al, 1991). (Cf. Figure 04).



**Figure 04:** Collecte par technique laparoscopique avec sonde 3 voies (Vallet et al, 1991).

Il a été observé que le taux de collecte obtenu par cette technique (endoscopie) est 10 à 15 % inférieur à celui obtenu par la technique chirurgicale. Toutefois, l'avantage principal de ce procédé est sa répétitivité sur le même sujet sans diminuer le taux de collecte d'embryons (Vallet et al, 1991). De plus, les brebis récupèrent rapidement après l'intervention (Youngquist ; 1997).

### II.5. Méthode de tri et sélection des embryons :

Une fois les embryons récoltés dans leur milieu, il est important de les observer à la loupe binoculaire afin de vérifier l'adéquation entre leur stade de développement et la date de récolte. On évalue aussi leur qualité. L'ensemble de la méthode de tri et sélection des embryons présentés ici est celle du guide des bonnes pratiques de l'IETS (International Embryo Transfer Society) (Robertson et Nelson, 1998).

**Qualité des embryons:** Une fois le stade de développement identifié, il faut estimer la qualité de cet embryon (Robertson et Nelson, 1998). Ceci permet de fournir un pronostic sur sa viabilité. La qualité est estimée en observant la forme globale de l'embryon (sphérique), s'il est symétrique, si l'ensemble des cellules le composant sont de taille uniforme, la couleur de l'embryon, et finalement sa texture (Lindner et Wright, 1983). L'IETS a donnée 4 niveaux de qualité possibles (Robertson et Nelson, 1998) :

**Qualité 1 (Excellent ou bon) :** L'embryon est symétrique et sphérique, ses blastomères sont uniformes en taille, couleur et densité. Le stade de développement est en adéquation avec la date de récolte. Au moins 85% des cellules le composant doivent être intactes, et rattachées à la masse cellulaire (on estime le nombre de cellules extrudées dans l'espace périvitellin). La zone pellucide doit être lisse et sphérique.

**Qualité 2 (Satisfaisant) :** Irrégularités modérées concernant la forme globale de l'embryon, la taille, couleur ou densité de ses cellules. Au moins 50% de sa masse cellulaire doit être intacte.

**Qualité 3 (Insuffisant) :** Irrégularités majeures concernant la forme de l'embryon, la taille, couleur ou densité de ses cellules. Au moins 25% de sa masse cellulaire doit être intacte.

**Qualité 4 (Mort ou dégénéré) :** Embryon dégénéré (développement arrêté), ovocytes non fécondés ou embryon non segmenté.

## **II.6. Conservation des embryons avant transfert (frais/réfrigéré/congelé) :**

Il existe toujours un délai plus ou moins long entre la récolte d'un embryon et son transfert chez une receveuse. La conservation des embryons durant cette période peut se faire soit à température ambiante (conservation en frais), soit à +4°C (conservation réfrigérée), soit à une température stoppant toute réaction chimique : -196°C (conservation par congélation).

Un embryon conservé à température ambiante pendant quelques heures peut être transféré dans une receveuse synchronisée sans aucun problème. Mais si le nombre d'embryons collectés est supérieur à la capacité de gestation (2 à 3 embryons par animal) des receveuses disponibles, il faudra alors conserver ces embryons surnuméraires. Pour être conservé plus de quelques heures, il faut stopper ou ralentir son développement. Si la conservation doit durer moins de 4 jours, la conservation par réfrigération est adaptée. En revanche, si les embryons doivent être conservés pour une période supérieure à 4 jours ou envoyés pour des échanges commerciaux, c'est la cryoconservation qui s'impose (Bondurant et al, 1982).

## **II.7. Transfert d'embryon :**

Le transfert des embryons au stade morula ou blastocyste est effectué dans l'utérus d'une femelle receveuse dont l'œstrus a été préalablement synchronisé par traitement hormonal avec celui de la donneuse. Cette opération est réalisée très rapidement (3 minutes par receveuse) par laparoscopie, sous anesthésie locale et tranquilisante, et avec la même efficacité (70 à 75 % de taux de gestation) qu'après laparotomie (Baril et al 1993).

### **II.7.1. Transfert chirurgical :**

La préparation de l'animal et son anesthésie / tranquillisation sont les mêmes que celles de collecte chirurgicale. L'abord utérin se fait par une laparotomie au niveau de la ligne blanche. Une fois repéré, l'utérus est manipulé de sorte à pouvoir observer les 2 ovaires et déterminer celui qui porte un corps jaune fonctionnel (Youngquist, 1997). On placera les embryons dans le dernier tiers supérieur de la corne ipsilatérale au corps jaune. Une fois les embryons transférés, l'utérus est remis en position physiologique et la paroi abdominale est suturée (Vallet et al, 1991).

### **II.7.2. Transfert laparoscopique :**

Selon (Youngquist; 1997) cette technique se résume à :

- Mettre l'animal en décubitus dorsal avec la tête placée vers le bas, puis création d'un pneumopéritoine en insufflant du CO<sub>2</sub>.
- Incisions de la peau 2 à 3 cm de part et d'autre de la ligne blanche cranialement à la mamelle : une incision servira à l'introduction de l'optique et l'autre pour une pince atraumatique qui permet de saisir la corne ipsilatérale au corps jaune fonctionnel repéré.
- Ponctionner la paroi utérine avec une aiguille de 14 gauges juste cranialement à la pince atraumatique.
- Dépôt des embryons dans la lumière utérine à l'aide d'une pipette en verre reliée à une seringue à insuline.
- A la fin de l'intervention, on procède à la suture des 2 incisions de la paroi abdominale.

À la suite au transfert de 2 embryons frais par receveuse synchronisée la fertilité est comprise entre 70 et 80%; la survie des embryons chez les receveuses fertiles étant de

80%, la survie moyenne de l'embryon frais transféré est de 65% (Cf. Tableau II). Pour un embryon décongelé et jugé viable, la survie globale est de 50-55% (Vallet et al, 1991).

**Tableau II:** Résultats de transfert laparoscopique (embryons frais ou congelés) (Ishida et al, 1999).

Embryons	Nb de brebis	Tx de gestation %	Tx d'agnelage %
Frais	18	38.9	33.3
Congelés	19	26.3	26.3

**Tableau III:** Fertilité (%) des brebis mettant bas (nombre de receveuses) après transfert laparoscopique ou chirurgical (Brebion et al, 1992).

Type de transfert	Fertilité	
	Embryons frais	Embryons congelés
Laparoscopique	80 (46)	90 (20)
Chirurgical	88 (25)	45 (11)

### III. Facteurs de variation et limites de la production et transfert d'embryons *in vivo*:

La plupart des études sur MOET (Multiple ovulation and embryo transfer) sont orientées sur la variabilité des taux d'ovulation et le rendement des embryons transférables en réponse au traitement exogène de FSH. Des améliorations récentes concernant l'administration de préparations de gonadotrophines ne peuvent pas négliger cette variabilité de réponse entre les donneuses traitées (Cognié; 1999).

Les faibles réponses au traitement FSH chez les femelles superovulées (<5 ovulations : 20 % des brebis Lacaune) constituent un facteur limitant du transfert embryonnaire (Cognié et Baril, 2002). Parmi les facteurs qui peuvent influencer les résultats il y'a :

#### III.1. Variations liées à l'individu (intrinsèques):

Le facteur intrinsèque de chaque animal joue un rôle primordial dans la réponse au traitement de superovulation (Donaldson, 1984).

##### A. L'âge :

L'âge de l'animal peut constituer un facteur limitant compte tenu du fait que le nombre de follicules qui quittent la réserve diminue avec celui-ci (Hanzen, 2008). En revanche, les résultats rapportés par Forcada et al (2000), Simonetti et al, (2008) et Bartlewski et al, (2008) montrent que la réponse ovulatoire est plus importante chez les brebis adultes que celle des plus jeunes.

L'âge peut influencer aussi la qualité et la survie des embryons, Dingwall et al (1993) rapportent que ces paramètres étaient inférieurs chez les brebis plus jeunes. Par contre, Wolf et Mylne (1994) n'ont trouvés aucune différence dans les taux d'ovulations et de récolte d'embryons pour les brebis Texel âgées et celles d'un an, mais la qualité d'embryons et leur survie ont tendance à être inférieures chez les donneuses plus jeunes.

### B. La race:

Il apparaît clairement que l'on n'obtient pas les mêmes résultats de superovulation dans toutes les races, cela a été montré par Armstrong et Evans (1983) chez les ovins pour la brebis Romney Marsh, ils constatent une plus faible réponse au traitement pFSH que pour la brebis Mérinos. Suite à l'administration de 16 mg de FSH porcine, la réponse ovulatoire des brebis de race Lacaune est inférieure à celle des brebis prolifiques Romanov x Préalpe (Torres et al, 1984). L'effet de race peut s'expliquer par le fait que les follicules des brebis prolifiques atteignent leur maturité à un diamètre inférieur à ceux des brebis non-prolifères (Castonguay et al, 1996).

### C. Le nombre et taille de follicules :

L'état de la population folliculaire au moment où débute la stimulation ovarienne étant le facteur principal de variation de la réponse à FSH (Saumande, 1995).

Chez la brebis superovulée, le nombre d'ovulations est positivement corrélé ( $r = 0,7$ ) au nombre de petits follicules (de 1-2 mm) (Gibbons et Cueto, 1995) et négativement affecté par la présence de gros follicules ( $> 6$  mm) présents sur les ovaires au début de la stimulation gonadotrope (Brebion et al., 1992 ; Gonzalez-Bulnes et al, 2002; Bartlewski et al, 2008) (Cf. Tableau IV) ou par la présence/absence de corps jaunes au début et/ou pendant le traitement de superovulation (Gonzalez-Bulnes et al., 2002).

Les mêmes constatations ont été signalé par Gonzalez-Bulnes et al (2003) qui rapportent que le nombre total de follicules (2 à 4 mm de diamètre) dans l'ovaire au début du traitement ( $9.1 \pm 0.7$ ) a été positivement corrélé avec le taux d'ovulation ( $P < 0.05$ ,  $r = 0.591$ ), avec le taux de récolte et le nombre d'embryons viables.

La possibilité d'effectuer une pré-observation laparoscopique permet de refuser le traitement des femelles ayant un petit nombre de follicules (Gibbons et Cueto, 1995).

**Tableau IV:** Réponse superovulatoire et statut folliculaire à la première injection de pFSH (brebis Rideau Arcott) (Bartlewski et al, 2008).

Traitement	Nb de follicules (2-3mm)	Nb de corps jaunes	Taux de récolte %	Nb d'embryons		Taux de viabilité %
				Classe1-3	Classe4	
pFSH	$7.2 \pm 0.3$	$9.9 \pm 2.4$	$46.6 \pm 7.8$	$2.5 \pm 1.0$	$1.6 \pm 0.6$	$65.6 \pm 10.5$

### III.2. Variations liées à l'environnement (extrinsèques):

#### A. Le stade sexuel :

Le stade sexuel influe également le nombre moyen d'œufs par brebis, ce nombre a été plus élevé dans la saison de reproduction par rapport à la période d'anœstrus (Torres et al, 1984). Cette différence n'a pas été observée chez des chèvres laitières, bien que la qualité des embryons soit plus élevée dans la saison de reproduction (Baril et Vallet, 1990).

#### B. L'alimentation :

La nutrition joue un rôle très important dans la réponse aux traitements hormonaux de superovulation, car il a été démontré que la nutrition pouvait affecter non seulement la réponse ovulatoire, mais aussi la lutéolyse précoce, à la fois dans la saison sexuelle et l'anœstrus (Jabbour et al 1991). Par conséquent, le nombre d'embryons récupérés chez la



chèvre est faible en raison du transport anormal de l'embryon dans l'utérus (Armstrong et al, 1983), ce problème a également été signalé chez les ovins (Jabbour et al, 1991). Un bon état corporel a une action positive sur le développement de l'ovaire, le taux d'ovulation, le taux de fécondation et l'implantation embryonnaire et diminue la mortalité embryonnaire (Anonyme 6).

Un des mécanismes de l'effet de l'alimentation sur l'ovulation a été proposé par Smith (1984), Le flushing produit une augmentation de la taille du foie et une élévation de la concentration des enzymes microsomiales hépatiques. Il en résulte une augmentation du niveau métabolique des œstrogènes, et par suite, celle du niveau de la FSH avant et pendant la lutéolyse. Cette élévation de la FSH dans l'organisme peut être responsable du développement d'un plus grand nombre des follicules ovulant.

### **C. La molécule utilisée :**

Le facteur de variation le plus important est le traitement hormonal lui-même et les résultats obtenus dépendront du type d'hormone utilisée (Driancourt et Fry, 1992). Le rapport FSH/LH dans les préparations gonadotrophines affecte la qualité des embryons récoltés chez les brebis superovulées (Cognié et al, 1986; D'Alessandro et al, 1997). En effet, la FSH est plus active que l'eCG, probablement à cause de la forte activité LH de l'eCG (Armstrong et Evans, 1983; Cognié et Baril, 2002) ce qui donne des meilleurs résultats avec la FSH (Armstrong et Evans, 1983; Thompson et al, 1990). Aussi, le traitement superovulatoire avec un cocktail eCG/FSH augmente la réponse ovarienne par rapport au traitement avec la FSH seule (Leoni et al, 2001).

### **D. La dose:**

La dose totale efficace varie largement selon la préparation hormonale et le génotype de la donneuse (Cf. Annexe 2). Les doses de FSHp les plus souvent préconisées chez la brebis sont comprises entre 16 et 20 mg (Brebion et al, 1992; Tervit et al, 1984).

Il a été constaté que des doses trop importantes de FSH réduisent le taux d'ovulation, c'est ce qu'a montré Smith en comparant un traitement de 22mg sur 3.5 jours à un traitement de 30mg sur une même durée: le taux d'ovulation observé étant de 14.93 contre 10.73, ce qui semble montrer un effet inhibiteur des doses élevées en FSH (Smith, 1984).

### **E. La répétabilité de la superovulation :**

Chez la brebis, avec un intervalle de 2 mois entre traitements pFSH successifs, une diminution significative de la réponse n'est observée qu'à partir du quatrième traitement (Brebion et al, 1991). Cependant, l'administration répétée d'oFSH ne provoque pas de diminution du nombre d'ovulations chez les brebis (Bari et al, 2001).

OBJECTIFS

## OBJECTIFS

Les méthodes de biotechnologie de la reproduction en particulier la superovulation et le transfert embryonnaire (MOET), sont des outils indispensables pour la mise en œuvre des programmes de conservation des espèces qui sont en voie de disparition, comme elles sont des méthodes de choix qui permettent d'accélérer le progrès génétique. Dans cette optique l'objectif de la présente étude est :

- ❖ D'établir s'il existe une relation entre la population folliculaire et la réponse ovarienne après un traitement de superovulation.
- ❖ D'évaluer la réponse ovarienne et la qualité des embryons produits après utilisation de trois traitements de superovulation à base de FSHp.

# L'ETUDE EXPERIMENTALE

# CHAPITRE I

## EVALUATION DE LA REPONSE AU TRAITEMENT DE SUPEROVULATION

## I. Lieu et période de l'expérimentation :

La superovulation représente une étape essentielle dans le cadre d'un protocole de transfert embryonnaire, dans la mesure où elle permet une production importante d'embryons transférables.

Cette partie du travail s'est déroulée au niveau de la station expérimentale de l'université Saad Dahlab de Blida du 03-12-2008 au 08-06-2009.

## II. Matériel et méthodes :

### II.1. Matériel :

#### II.1.1. Animaux :

#### A. Les brebis :

Seize (16) brebis ont été sélectionnées pour la réalisation de notre travail, Onze (11) brebis donneuses de race Ouled Djellal et Cinq (05) brebis receveuses de race mixte. Les renseignements relatifs à l'identification des brebis donneuses et receveuses sont reportés dans les tableaux ci-dessous:

**Tableau V : Poids, âge et note d'état corporel des donneuses.**

Brebis		Poids (kg)	Age (mois)	NEC
Lot 01	B1	51.5	42	2,50
	B2	51	48	2,50
	B3	45	24	2
	B4	52	60	3
	Moyenne	49.33±3.78	43.5±18.33	2.5±0.5
Lot 02	B5	45	36	2
	B6	51	48	2,50
	B7	41	42	2
	B8	61	48	3,5
	Moyenne	49.5±8.69	43.5±5.74	2.5±0.70
Lot 03	B9	45	66	2
	B10	40.2	24	2
	B11	55	42	3
	Moyenne	46.73±7.05	44±21.07	2.33±0.57

Les poids moyens des brebis donneuses sont de 49.33±3.78, 49.5±8.69, 46.73±7.05 pour les lots 1,2 et 3 respectivement. L'âge moyen des lots 1,2 et 3 est respectivement de 43.5±18.33, 43.5±5.74, 44±21.07. La note d'état corporel moyenne varie de 2.33±0.57 à 2.5±0.70.

**Tableau VI : Poids, âge et note d'état corporel des receveuses.**

Brebis	Poids (kg)	Age (mois)	NEC
R1	26.6	18	1.5
R2	31.6	30	2
R3	36.6	18	2.5
R4	47.4	42	3
R5	39.4	36	2.75
Moyenne	36.31±10.60	28.8±10.73	2.5±0.70

Le poids moyen, l'âge moyen et la note d'état corporel moyenne des brebis receveuses sont respectivement de  $36.31 \pm 10.60$ ,  $28.8 \pm 10.73$  et  $2.5 \pm 0.70$ .

## **B. Les béliers :**

Six (06) béliers ont été choisis pour la détection des chaleurs et la saillie :

- Deux béliers de race Hamra et deux béliers de race Rumbi ont été utilisés pour la détection des chaleurs. Ils présentaient un âge moyen de 5 ans, un poids moyen de 58.7 kg et une note d'état corporelle moyenne de 3.
- Deux béliers de race Ouled Djellal ayant un âge moyen de 4.5 ans, un poids moyen de 65 kg et une note d'état corporelle moyenne de 3.2, ont été utilisés pour la saillie.

Les animaux ont été identifiés, séparés du troupeau pendant toute la période de l'étude. Ils recevaient une alimentation constituée d'une ration de base de foin d'avoine et d'une ration complémentaire, à base de concentré. Le déparasitage du cheptel ovin a été fait auparavant par le vétérinaire de la station expérimentale avec des antiparasitaires (Valbazen ND) et (Ivomec ND).

### **II.1.2. Appareils, instrument et produits :**

#### **A. Appareils et instruments :**

##### **A.1. Matériel d'échographie :**

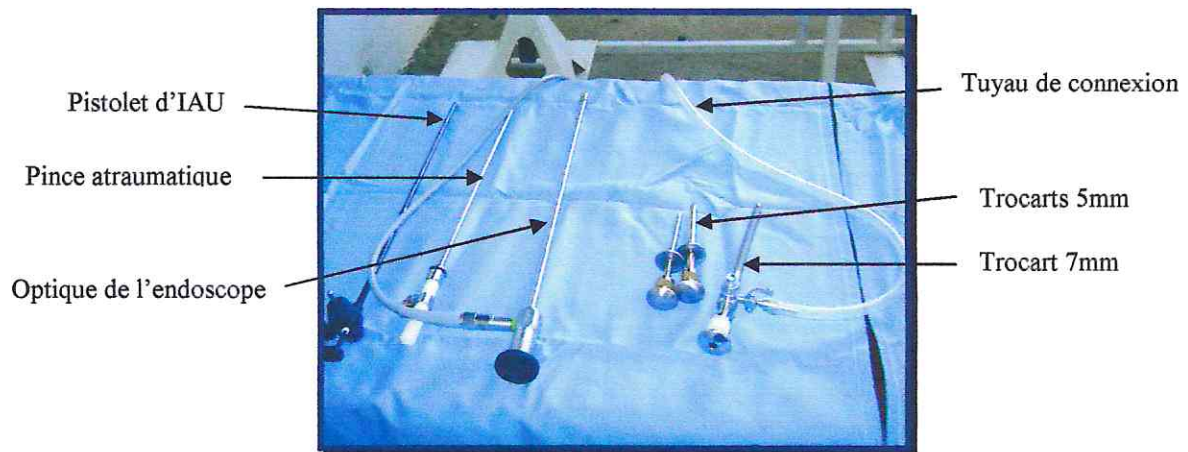
Le matériel utilisé pour la réalisation de l'examen échographique est le suivant :

- Un échographe de type pie médicale 100LC pourvu d'une sonde bifréquences 6/8.
- Un support en PVC pour la fixation de la sonde.
- Un gel lubrifiant.

##### **A.2. Matériel d'endoscopie :**

Le matériel endoscopique utilisé est le suivant (Cf. photo 04):

- Une table de contention inclinable.
- Endoscope avec vision directe ( $0^\circ$ ), diamètre externe 6,5 mm (STORZ).
- Générateur de lumière froide à intensité variable.
- Câble de fibre optique.
- Trocart avec canule à piston et orifice pour l'insufflation d'air (trocart 7 mm de diamètre, recevant l'endoscope).
- Trocart avec canule de 5 mm recevant la pince à préhension.
- Pompe avec filtre et commande de pompe au pied.
- Tuyau de connexion entre la pompe et le robinet d'arrivée de l'air fixé sur le trocart recevant l'endoscope.
- Pistolet d'insémination intra-utérine.
- Pince à préhension atraumatique.



**Photo 04:** Matériel endoscopique.

### B. Produits :

Les produits utilisés sont les suivants:

- 1- **Eponges vaginales** : Imprégnées chacune de 40 mg d'acétate de fluorogestone (FGA), commercialisées sous le nom de (Chronogest ND).
- 2- **FSHp** : Extrait hypophysaire porcin purifié (Stimufol ND).
- 3- **LHp** : Extrait hypophysaire porcin purifié (Stimufol ND).
- 4- **PMSG** : (Pregnent Mare Serum Gonadotrophin) conditionné dans des boîtes contenant des flacons de lyophilisat (1000 UI) et des flacons de solvant, ce produit est commercialisé sous le nom de (Folligon ND).
- 5- **Antibiotique et désinfectant** : Nous avons utilisés de la (Terramycine ND) sous forme de spray, la pénicilline streptomycine (Pen & Strep ND) ainsi que du permanganate de potassium.

### II.2. Méthodes :

La première étape du travail été la sélection des brebis vides grâce a un examen échographique juste avant le début du protocole de synchronisation et de superovulation. Par la suite un allotement homogène des brebis a été pratiqué [lot 1 (20 UA), lot 2 (16UA), lot 3 (40%)].

En fin, un examen endoscopique a été effectué chez toutes les brebis juste avant les traitements de superovulation.

#### II.2.1. Examen échographique :

L'examen échographique avait comme but, de sélectionner des brebis vides et la confirmation de la gestation après le transfert. Nous avons utilisés la technique décrite par Khan (1994).

La sonde bifréquence 6/8 Mhz a été fixée à un tube en PVC, ce qui permet l'introduction de la sonde et sa manipulation externe. La brebis a été examinée en position dorsale et/ou debout par voie transrectale et/ou transabdominale.

Pour la position transrectale, une fois que la brebis a été contenue, la sonde recouverte de gel a été introduite délicatement dans le rectum jusqu'à l'observation de la vessie. En suite le faisceau ultrasonore a été dirigé vers la gauche puis la droite de la vessie afin de



visualiser la matrice. Lorsque les fèces sont collées sous la sonde, un léger mouvement de vas et vient avec la sonde ou la réintroduction de façon répétée dans le rectum a été réalisé.

Pour l'examen transabdominal, la brebis a été examinée en position debout. La sonde enduite de gel est appliquée en avant de la mamelle de préférence à droite, orientée dorso-caudalement et pressée modérément sur la paroi abdominale. Pour faciliter cet examen un aide tenait le membre postérieur droit en extension pour dégager la région inguinale.

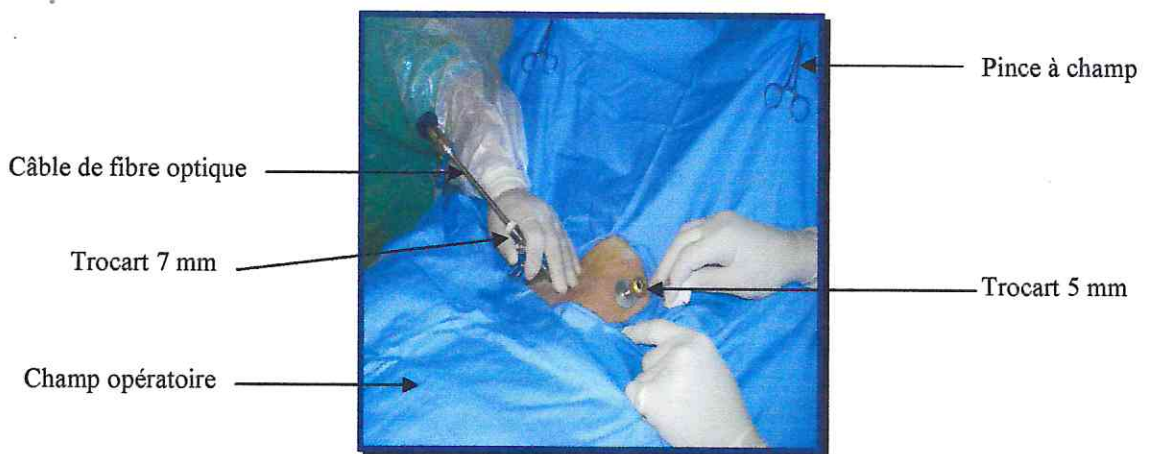
Pour l'interprétation d'une image échographique nous avons considérés que :

- Les structures anéchogènes, apparaissent noires à l'écran (exemple : les liquides).
- Les structures hyperéchogènes, sont à l'origine d'une réflexion importante des ultrasons qui forment une image claire à l'écran (exemple : les os).
- Les structures hypoéchogènes, apparaissent relativement sombres gris foncées (exemple : les tissus).

### II.2.2. Examen endoscopique :

L'examen endoscopique réalisé avant le début de traitement de superovulation avait comme but la détermination de l'état de la population folliculaire ovarienne.

La technique consiste à faire deux incisions de la peau abdominale ventrale 5 à 7 cm cranialement à la mamelle et 3 à 4 cm latéralement de la ligne blanche afin de pouvoir insérer deux trocarts (Cf. photo 05).



**Photo 05:** Insertion des deux trocarts.

Un premier trocart de 7 mm était d'abord mis en place afin de pouvoir insérer l'optique de l'endoscope et insuffler de l'air stérile dans l'abdomen afin de créer un pneumopéritoine permettant ainsi une meilleure observation de l'appareil génital. Puis un deuxième trocart de 5 mm était mis en place pour y insérer une pince atraumatique. Cette dernière permet la manipulation et la mesure de la taille des follicules grâce à une graduation en millimètre située à son bec.

Une fois l'ovaire (ovaire gauche ou droit) est visualisé un enregistrement du nombre et du diamètre des follicules (petits < 4 mm ou grands  $\geq$  4 mm) été réalisé.

### II.2.3. Protocole de synchronisation et de superovulation :

#### A. La synchronisation des chaleurs :

La synchronisation des chaleurs consistait en la mise des éponges pendant 14 jours chez les brebis donneuses et 13.5 jours chez les receveuses.

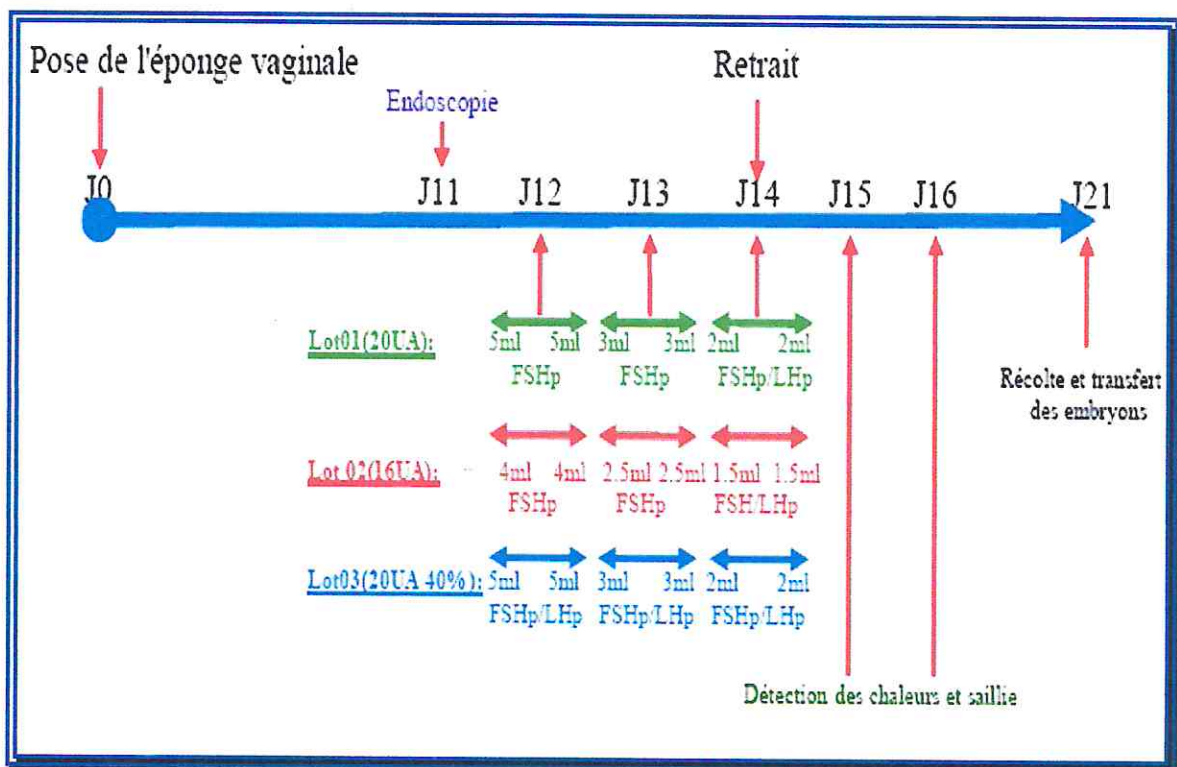
L'éponge vaginale était pulvérisée avec de la Terramycine avant sa mise en place. Après contention de la brebis, l'applicateur lubrifié avec un gel est muni de l'éponge était introduit jusqu'au fond du vagin tout en évitant le traumatisme du méat urinaire. L'applicateur était ensuite retiré soigneusement laissant le fil entre les deux lèvres vulvaires permettant ainsi son retrait ultérieur.

Pour les receveuses, une injection de 500UI de PMSG a été réalisée au moment du retrait de l'éponge soit 12 heures avant les donneuses.

#### B. Traitement de superovulation :

Le traitement consistait en l'administration en IM pendant 3 jours de 6 injections d'extraits hypophysaires (FSH et LH) en doses décroissantes et à 12 heures d'intervalle. La première injection se faisait le matin du 12<sup>ème</sup> jour après la pose de l'éponge vaginale et la dernière, le soir du retrait de l'éponge.

- Le lot N°01 et le lot N°02 ont reçus respectivement une dose totale de 20 UA et 16 UA : les quatre premières injections étaient à base de FSHp pure. Les deux dernières injections ont été à base d'un mélange de FSH et LH (l'injection du matin présentait un rapport FSH/LH de 0,3 et celle du soir un rapport de 0,22).
- Le lot N°03 a reçu une dose totale de 20UA et un rapport FSHp/LHp constant de (40%). Le rythme d'injection est présenté dans la figure 5.



**Figure 05:** Protocole de synchronisation, superovulation et de collecte des embryons chez les donneuses.

### C. Détection des chaleurs et saillie :

La détection des chaleurs commençait 16 heures après le retrait du dispositif intra-vaginal chez les donneuses, soit 24h pour les receveuses, elle était réalisée toute les 4h à l'aide de béliers munis d'un tablier (Cf. photo 06).



**Photo 06:** Détection des chaleurs avec un bélier de race Hamra.



**Photo 07:** Saillie des brebis avec un bélier de race Ouled Djellal.

Toute femelle restant immobile lors du chevauchement était considérée en chaleur. Les donneuses ont été saillies deux fois à 12h d'intervalle (Cf. photo 07). Si une donneuse manifestait encore des signes de chaleurs, elle était accouplée de nouveau avec le même bélier, l'opération était donc renouvelée jusqu'à disparition des signes d'œstrus.

### D. Analyse des données :

Un logiciel statistica version 6 été utilisé pour le calcul de:

- ❖ La moyenne et l'écartype.
- ❖ La comparaison entre les moyennes.
- ❖ Coefficient de corrélation.

### III. Résultats :

#### III.1. Etat de la population folliculaire des ovaires :

Le dénombrement des follicules chez les donneuses a été réalisé sous endoscopie un jour avant le traitement de superovulation.

Les résultats du dénombrement sont reportés dans les tableaux ci-dessous :

#### A. Lot 01 (20UA) :

Les résultats du dénombrement des follicules par ovaire chez les brebis du lot 01 sont reportés dans les tableaux suivants:

**Tableau VII:** Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 01.

Brebis	Nombre	
	Petits follicules	Gros follicules
<b>B1</b>	07	04
<b>B2</b>	10	00
<b>B3</b>	04	01
<b>B4</b>	12	03
<b>Total</b>	33	08
<b>Moyenne</b>	8.25±3.5	02±1.82

Le dénombrement des follicules sous endoscopie nous a révélé que le nombre total des petits follicules, est de 33 soit une moyenne de 8.25±3.5. Alors que le nombre total des grands follicules, est de 08 soit une moyenne de 02±1.82.

**Tableau VIII:** Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 01.  
(Nb : Nombre, Pf : Petits follicules, Gf : Gros follicules).

Brebis	Ovaire droit		Ovaire gauche	
	Nb Pf	Nb Gf	Nb Pf	Nb Gf
<b>B1</b>	04	00	03	04
<b>B2</b>	03	00	07	00
<b>B3</b>	04	01	00	00
<b>B4</b>	04	01	08	02
<b>Total</b>	15	02	18	06
<b>Moyenne</b>	3,75±0.5	0.5±0.57	4.5±3.69	1.5±1.91

Nos résultats montrent que les ovaires droits présentent un nombre moyen de petits et grands follicules de 3,75±0.5 et 0.5±0.57 respectivement. Et le nombre moyen de petits et grands follicules pour les ovaires gauches est de 4.5±3.69 et 1.5±1.91 respectivement.

**B. Lot 02 (16UA) :**

Les résultats du dénombrement des follicules chez les brebis du lot 02 sont reportés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau IX:** Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 02.

Brebis	Nombre	
	Petits follicules	Gros follicules
B5	08	00
B6	05	00
B7	12	01
B8	09	00
<b>Total</b>	34	01
<b>Moyenne</b>	8,5±2.88	0,25

Le dénombrement des follicules sous endoscopie nous a révélé que le nombre total des petits follicules, est de 34 soit une moyenne de 8,5±2.88. Alors que le nombre total des grands follicules, est de 01 soit une moyenne de 0,25.

**Tableau X:** Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 02. (Nb : Nombre, Pf : Petits follicules, Gf : Gros follicules).

Brebis	Ovaire droit		Ovaire gauche	
	Nb	Nb	Nb	Nb
	PF	Gf	PF	Gf
B5	04	00	04	00
B6	01	00	04	00
B7	06	00	06	01
B8	05	00	04	00
<b>Total</b>	16	00	18	01
<b>Moyenne</b>	04±2.16	00	4.50±1	0.25

Nos résultats montrent que les ovaires droits présentent un nombre moyen de petits et grands follicules de 04±2.16 et 00 respectivement. Et le nombre moyen de petits et grands follicules pour les ovaires gauches est de 4. 50±1et 0.25±0.5 respectivement.

**C. Lot 03 (40%) :**

Les résultats du dénombrement des follicules chez les brebis du lot 03 sont reportés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau XI:** Nombre et moyenne des follicules par brebis du lot 03.

Brebis	Nombre	
	Petits follicules	Gros follicules
B9	06	02
B10	04	00
B11	10	00
<b>Total</b>	20	02
<b>Moyenne</b>	6,66±3.05	0,66±1.15

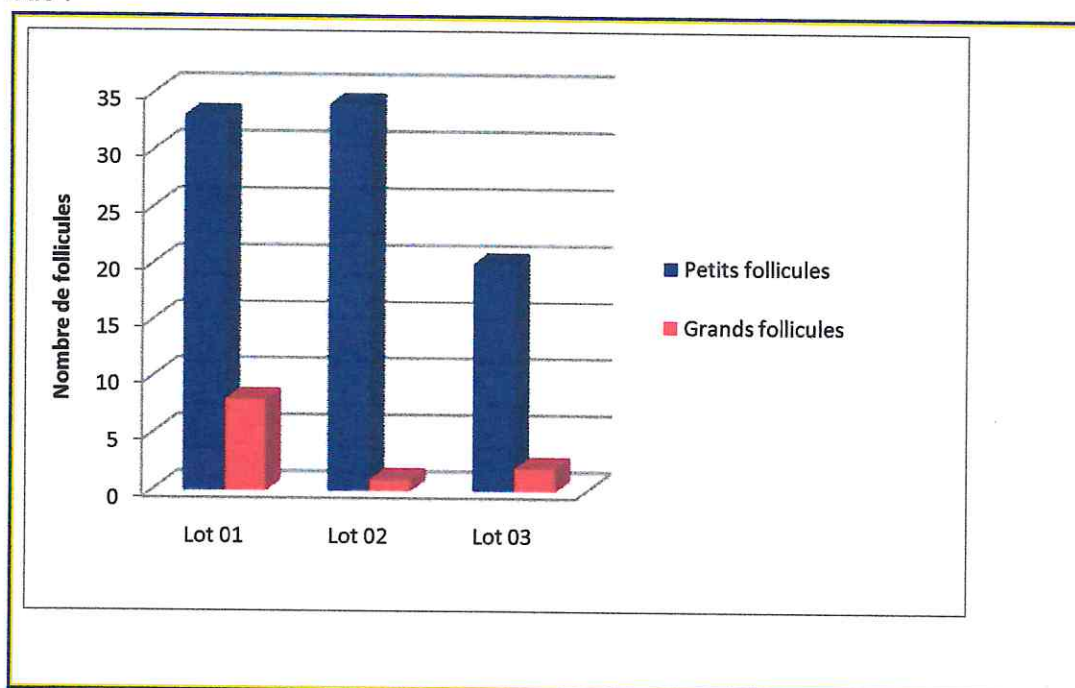
Le dénombrement des follicules sous endoscopie nous a révélé que le nombre total des petits follicules, est de 20 soit une moyenne de  $6,66 \pm 3,05$ . Alors que le nombre total des grands follicules, est de 02 soit une moyenne de  $0,66 \pm 1,15$ .

**Tableau XII:** Répartition des follicules selon la position de l'ovaire chez les brebis du lot 03.  
(Nb : Nombre, Pf : Petits follicules, Gf : Gros follicules).

Brebis	Ovaire droit		Ovaire gauche	
	Nb Pf	Nb Gf	Nb Pf	Nb Gf
B9	05	00	03	00
B10	06	02	09	00
B11	05	00	03	01
<b>Total</b>	16	02	15	01
<b>Moyenne</b>	$5.33 \pm 0.57$	$0.66 \pm 1.15$	$05 \pm 3.46$	$0.33 \pm 0.57$

Nos résultats montrent que les ovaires droits présentent un nombre moyen de petits et grands follicules de  $5.33 \pm 0.57$  et  $0.66 \pm 1.15$  respectivement. Et le nombre moyen de petits et grands follicules pour les ovaires gauches est de  $05 \pm 3.46$  et  $0,33 \pm 0.57$  respectivement.

Le nombre de petits et de gros follicules pour les trois lots est présenté dans la figure ci-dessous :



**Figure 06:** Représentation graphique du dénombrement des follicules.

### III.2. Expression des chaleurs chez les donneuses :

Les résultats de la détection des chaleurs chez les donneuses sont reportés dans le tableau suivant :

**Tableau XIII:** La durée moyenne des chaleurs chez les donneuses.

Brebis		Chaleurs après le retrait de l'éponge vaginale (heures)		
		Début	Fin	Durée des chaleurs
Lot 1	B1	16	67	51
	B2	17	49	32
	B3	28	51	23
	B4	24	67	43
	<b>Moyenne</b>	21.25±5.73	58.5±9.84	37.25 ±12.28
Lot 2	B5	22	49	27
	B6	27	66	39
	B7	21	69	48
	B8	28	66	38
	<b>Moyenne</b>	24.5±3.51	62.5±9.11	38±8.60
<b>Moyenne globale</b>		22.87±4.73	60.5±9.03	37.62±9.82

Nos résultats montrent que les chaleurs chez les brebis du lot 1 ont été commencées 16h après le retrait de l'éponge vaginale, alors que la fin des chaleurs a été observée à 67 h. La durée moyenne des chaleurs est de 37.25±12.28, la brebis B1 a présentée l'œstrus le plus long soit 51h.

Les chaleurs ont débutés 21h après le retrait de l'éponge vaginale chez les brebis du lot 2, alors que la fin de ces dernières a été observée à 69h. La durée moyenne des chaleurs chez les 04 brebis est de 38±8.60, la brebis B5 a présentée l'œstrus le plus court soit 27h.

En moyenne le début des chaleurs chez l'ensemble des brebis est de 22.87± 4.73, alors que la durée des chaleurs est de 37.62±9.82. Cependant, aucune brebis du lot 3 n'a présentée des chaleurs.

### III.3. Expression des chaleurs chez les receveuses :

Les résultats de la détection des chaleurs chez les receveuses sont reportés dans le tableau suivant :

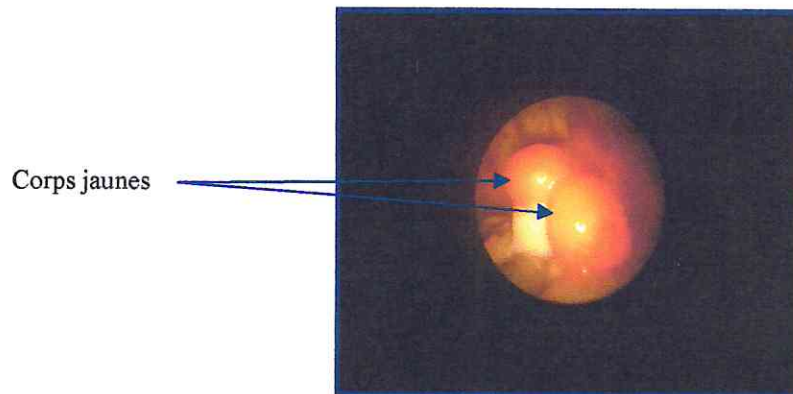
**Tableau XIV:** La durée moyenne des chaleurs chez les receveuses.

Brebis	Chaleurs après le retrait de l'éponge vaginale (heures)		
	Début	Fin	Durée des chaleurs
R1	26	62	36
R2	33	61	28
R3	40	70	30
R4	33	62	29
R5	30	62	32
<b>Moyenne</b>	32.4±5.12	63.4±3.71	31±3.16

Nos observations montrent que les chaleurs ont commencés en moyenne  $32.4 \pm 5.12$  h après le retrait de l'éponge vaginale, alors que la fin de ces dernières a été observée à  $63.4 \pm 3.71$ h. La durée moyenne des chaleurs chez l'ensemble des brebis est de  $31 \pm 3.16$ .

#### III.4. Résultats de la réponse ovulatoire chez les donneuses :

L'évaluation de la réponse ovarienne par dénombrement des corps jaunes (Cf. photo 08) chez les donneuses est reportée dans le tableau ci-dessous :



**Photo 08:** Dénombrement des corps jaunes sous endoscopie chez une donneuse.

La réponse ovulatoire globale et par ovaire chez les brebis du lot 1 et 2 est reportée dans les tableaux suivants:

**Tableau XV:** Réponse ovulatoire globale chez les brebis donneuses.

	Brebis	Nombre de corps jaunes
<b>Lot 1</b>	<b>B1</b>	05
	<b>B2</b>	10
	<b>B3</b>	03
	<b>B4</b>	14
	<b>Total</b>	32
	<b>Moyenne</b>	$8 \pm 4.96$
<b>Lot2</b>	<b>B5</b>	06
	<b>B6</b>	08
	<b>B7</b>	16
	<b>B8</b>	04
	<b>Total</b>	34
	<b>Moyenne</b>	$8.5 \pm 5.25$

Le dénombrement des corps jaunes sous endoscopie nous a révélé que pour le :

#### Lot 1 :

- ❖ le nombre total de corps jaunes est de 32 soit une moyenne de  $8 \pm 4.96$ . Cette réponse varie de 03 à 14 corps jaunes.

#### Lot 2 :

- ❖ le nombre total de corps jaunes est de 34 soit une moyenne de  $8.5 \pm 5.25$ . Cette réponse varie de 04 à 16 corps jaunes.

Les résultats de l'évaluation de la réponse ovulatoire selon la position de l'ovaire chez les brebis donneuses sont présentés dans le tableau ci-dessous :

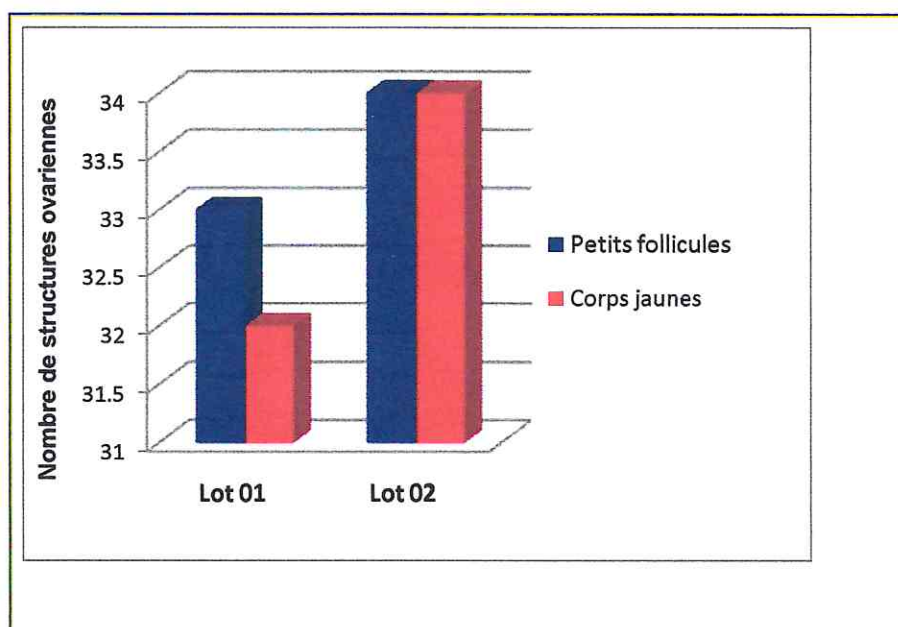


**Tableau XVI:** Réponse ovulatoire selon la position de l'ovaire chez les donneuses.

Brebis		Nombre de corps jaunes	
		Ovaire droit	Ovaire gauche
Lot 1	B1	03	02
	B2	04	06
	B3	03	00
	B4	06	08
	Moyenne	04±1.41	04±3.65
Lot 2	B5	04	02
	B6	03	05
	B7	08	08
	B8	02	02
	Moyenne	4.25±2.62	4.25±2.87

Les résultats du traitement de superovulation révèlent des réponses ovulatoires moyennes voisines pour chacune des cornes gauche et droite chez l'ensemble des brebis.

Le nombre de petits follicules et de corps jaunes est présenté dans la figure ci-dessous :



**Figure 07:** Représentation graphique du nombre de corps jaunes et de petits follicules chez les brebis donneuses.

Le traitement statistique des résultats révèle :

- ❖ Qu'il n'y a pas de différence significative en terme de réponse ovarienne (nombre de corps jaunes) ( $p=0,78$ ) entre les deux lots (16 UA et 20UA).
- ❖ Qu'il existe une corrélation positive (0,76) entre le nombre de petits follicules déterminés avant le traitement de super ovulation et le nombre de corps jaunes.

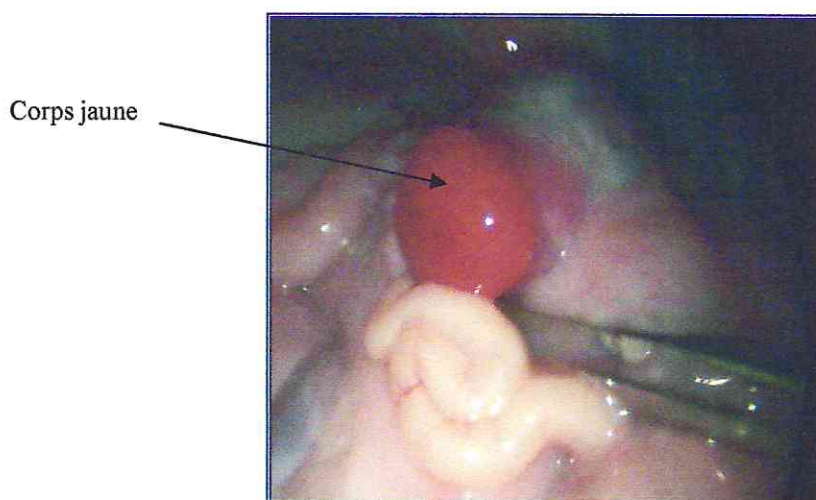
### III.5. La réponse ovulatoire chez les receveuses :

Les résultats de l'évaluation de la réponse ovulatoire après un traitement à base de PMSG sont reportés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XVII:** Réponse ovulatoire par ovaire et totale chez les receveuses.

Brebis	Nombre de corps jaunes		
	Ovaire droit	Ovaire gauche	Total
R1	02	00	02
R2	01	00	01
R3	00	01	01
R4	00	01	01
R5	01	00	01
<b>Moyenne</b>	<b>0.8±0.83</b>	<b>0.4±0.54</b>	<b>1.2±0.44</b>

Nos résultats montrent que toutes les brebis ont présentées au moins un corps jaune actif sur l'un des ovaires (Cf. photo 09). Le nombre moyen des corps jaunes est de  $1.2 \pm 0.44$ .



**Photo 09:** Dénombrement des corps jaunes sous endoscopie chez une receveuse.

# CHAPITRE II

## RECOLTE ET TRANSFERT DES EMBRYONS

**I. Lieu et période de l'expérimentation :**

Les opérations de collecte et de transfert ont été réalisées simultanément sans conservation (congélation) d'embryons, au niveau de la station expérimentale de l'université Saad Dahlab Blida.

**II. Matériel et méthodes :****II.1. Matériel :****II.1.1. Animaux :**

Les brebis utilisées durant cette partie de travail sont les mêmes décrites dans le chapitre I, sauf celles du lot 03 qui sont éliminées (08 donneuses et 05 receveuses).

**II.1.2. Instruments et produits :**

Les instruments et produits utilisés sont les suivants :

- Savon et éponge.
- Rasoir et lames de rasoir.
- Champ de tissu.
- Pince à champ.
- Alcool iodé.
- Alcool chirurgical.
- Fil de suture non résorbable N°06, fil de suture résorbable « Vicryl décimale N°02 et 05 », aiguille de suture et porte aiguilles.
- Lame de bistouri et porte lames.
- Antibiotique (Terramycine ®) pour la pulvérisation sur le site de ponction de l'abdomen et (Pen & strep ®) injectable par voie générale.
- Anesthésie générale (Xylazine), (Kétamine) et locale (Xylocaine).
- Ciseaux et forceps.
- Pincés bulldogs.
- Seringue de 50 ml pour injecter le PBS.
- Une sonde de Foley pédiatrique (30 cm, ballonnet 05 cc)
- Sonde cannelée.
- Trocars.
- Cathéter 16 gauges.
- Clamps vasculaires.
- Flacons de récolte stériles.
- Boîtes de pétrie carrées quadrillées.
- Petites boîtes de pétrie rondes.
- Une pipette en verre montée sur une seringue à insuline.
- Loupe binoculaire « Nikon » et microscope inversé « Hund ».
- Bain marie.
- Tubes gradués.
- PGF2 $\alpha$  (Estrumate ®).

## **II.2. Méthodes :**

### **II.2.1. Préparation des animaux et du champ opératoire :**

La récolte des embryons a été réalisée 06 jours après la saillie. Les brebis étaient mises à la diète complète la veille au soir du jour de collecte.

Après un rasage, nettoyage de la région abdominale ventro-caudale juste cranialement de la mamelle, une tranquillisation a été réalisée avec de la Xylazine à la dose de 0.1 mg/kg.

La brebis était ensuite contenue sur une table inclinable afin de faciliter l'observation du tractus génital sous endoscopie. Une anesthésie générale à base de kétamine était alors administrée en IV à la dose de 5.5 mg/kg.

Le champ de tissu était fixé aux deux membres postérieurs à l'aide de deux pinces à champ laissant ainsi apparaître la région rasée.

Le site opératoire était désinfecté deux fois avec une solution alcoolique et iodée.

### **II.2.2. Récolte chirurgicale :**

Si le résultat de l'examen laparoscopique était favorable (présence de plus de trois corps jaunes et absence d'adhérence), l'opération de récolte chirurgicale des embryons était alors lancée. Tout d'abord une incision abdominale ventrale de 03 à 04 cm au niveau de la ligne blanche était effectuée juste cranialement à la mamelle. A l'aide de forceps de 25 cm de long, une corne utérine était attrapée grâce à la vision endoscopique.

Une fois les forceps retirés, les deux cornes utérines étaient alors entièrement extériorisées tout en laissant les ovaires et le cervix dans l'abdomen. La procédure de collecte d'une corne puis l'autre pouvait commencer.

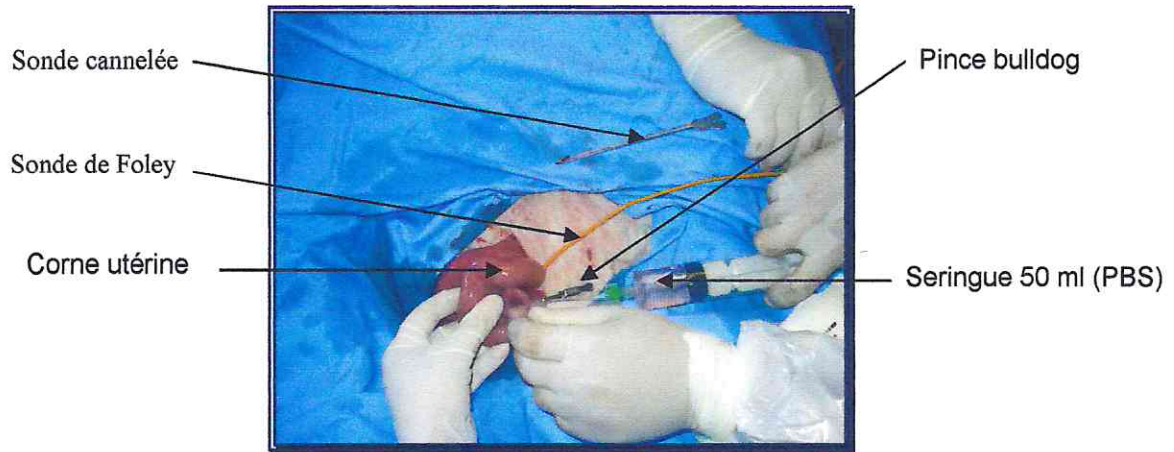
A l'aide de petits ciseaux pointus, la paroi d'une corne utérine était ponctionnée juste cranialement à la bifurcation des deux cornes. L'opérateur introduisait une sonde de Foley et gonflait le ballonnet à l'aide de milieu de récolte maintenu à 37C° afin d'obstruer la base de la corne utérine (Cf. photo 10).

L'autre extrémité de la corne était ensuite ponctionnée à l'aide de cathéter juste après la jonction utéro-tubaire.

Pour récupérer les embryons, 40 ml du milieu de collecte (PBS) étaient injectés à l'aide d'une seringue de 50 ml reliée à un cathéter 16 gauges. Le milieu de récolte était récupéré par la sonde de Foley dans un tube en plastique. Pour faciliter l'écoulement du milieu de collecte, l'opérateur effectuait un léger massage de la corne utérine. L'opération était en suite renouvelée sur l'autre corne.

Une fois les deux cornes collectées, une suture par un point simple de l'incision ayant permis l'insertion de la sonde de Foley était effectuée avec un fil résorbable (Vicryl décimale 2). Puis, la brebis était replacée en position horizontale pour faciliter sa respiration.

L'utérus était doucement remis en position physiologique avant que l'opérateur suture la paroi abdominale par des points en croix avec du Vicryl décimale 5. La peau était suturée par des points simples avec un fil non résorbable.



■ Injection du milieu de collecte dans la corne utérine et sa récupération dans le flacon stérile.



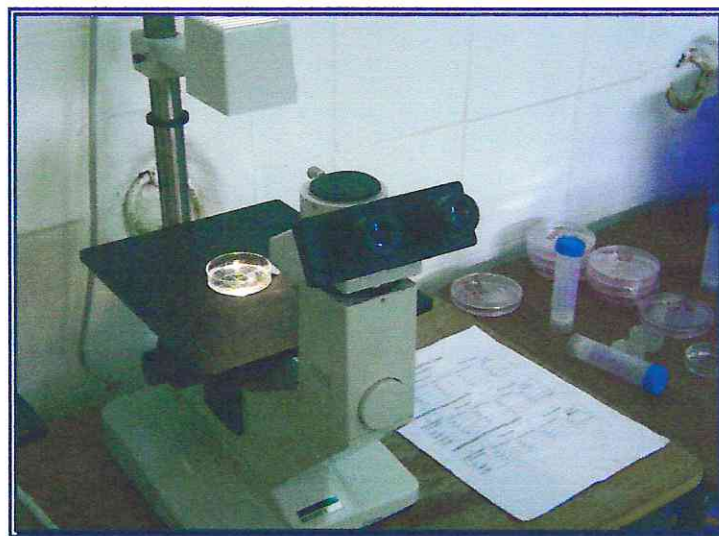
Le milieu de collecte, récupéré dans un récipient en plastique transparent marqué de façon indélébile avec le numéro d'identification de la donneuse, était transmis à l'opérateur chargé de la recherche des embryons.

A l'aide d'un microscope inversé (Gr x 40) (Cf. photo 11), après décantation, le fond de chaque récipient était observé.

Pour manipuler les embryons, l'opérateur utilisait une paille pour aspirer les embryons trouvés et les transférer dans une boîte de pétrie (diamètre 5 cm) contenant le milieu de collecte. Ainsi, les embryons récupérés étaient réunis dans la même boîte de pétrie avec identification précise de la donneuse.

La phase d'identification du stade de développement et de la qualité des embryons pouvait alors commencer.

Les embryons étaient observés individuellement à un Gr x 60, afin de déterminer leur stade de développement et leur qualité selon la nomenclature de L'INRA-UNCEIA (1990) et L'ETIS (1998).



■ Microscope inversé utilisé pour la recherche des embryons.

#### II.2.4. Transfert embryonnaire :

Le transfert était à chaque fois précédé d'un examen laparoscopique. La préparation et la contention des animaux était exactement la même que pour la collecte: diète complète 12h auparavant, tranquillisation à base de Xylazine (0.1 mg/kg), rasage nettoyage de la région abdominale ventro-caudale juste cranialement de la mamelle et la mise en place sur la table à plan inclinable.

Le but de l'examen laparoscopique était de vérifier la présence d'au moins un corps jaune paraissant fonctionnel.

Une fois la brebis receveuse installée sur la table et inclinée la tête en bas, un premier trocart de 7 mm était mis en place afin d'introduire l'optique et de créer un pneumopéritoine. Puis un second trocart de 5 mm était mis en place pour y insérer une pince atraumatique.

Une incision de 2 cm de long était pratiquée au niveau de la ligne blanche pour pouvoir y insérer un forceps. Grâce à la vision endoscopique, l'opérateur saisissait la corne utérine. Le matériel d'endoscopie était alors retiré et l'extrémité craniale de la corne utérine exposée à l'extérieur de l'abdomen et saisie à la main par l'opérateur. Une ponction de la paroi utérine était ensuite réalisée avec une aiguille afin de pouvoir y insérer l'extrémité de la paillette contenant les deux embryons (Cf. photo 12).

Une fois les embryons injectés, la corne utérine était relâchée pour retourner dans l'abdomen, puis la paroi abdominale était suturée par un point en croix (Vicryl décimal 5) et la peau par un point simple par un fil non résorbable N°6.

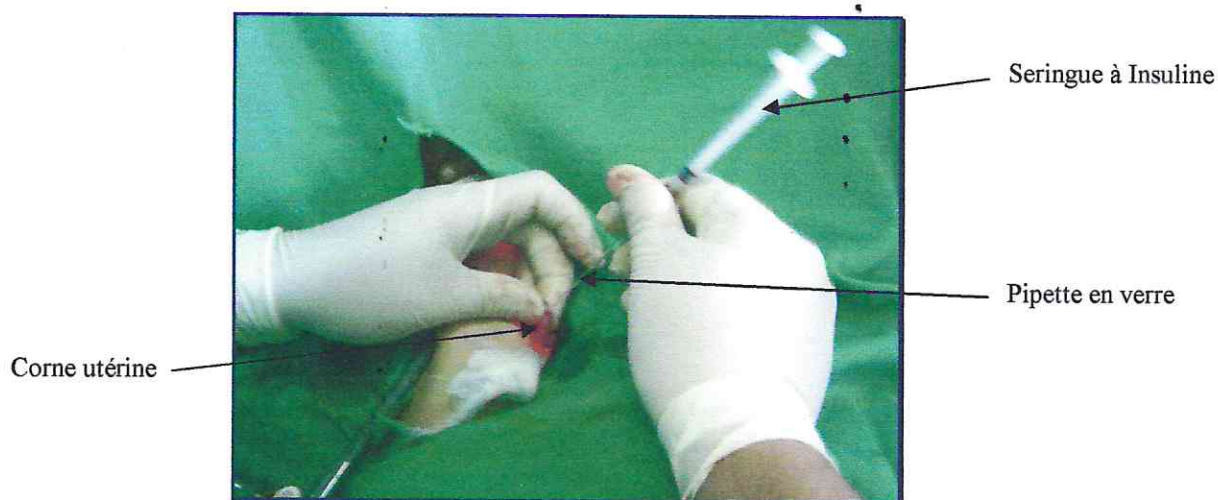


Photo 12: Technique de transfert des embryons.

#### II.2.5. Soins post opératoire :

Une fois la collecte chirurgicale terminée, les donneuses étaient mis au calme durant 12h avant de rentrer dans leur stabulation d'origine. C'est à ce moment qu'elles pouvaient reprendre leur alimentation.

Une dose lutéolytique de PGF2 $\alpha$  de 0.01 ml/kg en IM leur était administrée à la fin de l'opération afin d'éviter toute gestation.

Un traitement d'antibiotique à base de pénicilline et de streptomycine leur était administré en IM à la fin de la collecte puis les deux jours suivants à la dose de 2 ml.

### II.2.6. Diagnostic de gestation :

Le vingtième (20) et le trente-cinquième (35) jour, après la date de transfert des embryons chez les receveuses, un examen échographique (même méthode décrite dans le chapitre I) a été réalisé pour détecter d'éventuelle gestation.

### III. Résultats :

#### III.1. Résultats de la récolte:

L'examen microscopique des liquides de récolte a révélé les résultats suivants:

##### III.1.1. Taux de récupération:

L'observation sur microscope inversé des liquides de récolte des embryons, a révélée les résultats résumés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau XVIII:** Taux de récupération des embryons chez les donneuses.

Brebis		Nb de corps jaunes	Nb de structures récoltées	Tx de récupération %
Lot 1	B2	10	09	90
	B4	14	14	100
<b>Moyenne</b>		24	23	95,33
Lot 2	B5	06	05	83,33
	B6	08	02	25
<b>Moyenne</b>		14	07	50

**N.B:** Les brebis B1, B3, B7 et B8 n'étaient pas récoltées car elles présentaient les problèmes suivants, une faible réponse (B1), une infection abdominale (B3), lutéolyse précoce des corps jaunes (B7 et B8).

Nous avons constatés que le taux de récupération moyen pour les brebis du lot 1 est de 95,33 %. Avec un taux plus important pour la brebis 4 (soit un taux de récupération de 100%).Alors que le taux de récupération moyen pour les brebis du lot 2 est de 50 %.

##### III.1.2. Structures récoltées:

Le nombre de structures récoltées selon la position de la corne est rapporté dans le tableau suivant:

**Tableau XIX:** Le nombre moyen des structures récoltées selon la position de la corne.

Brebis		Nombre de structures récoltées		
		Corne droite	Corne gauche	Total
Lot 1	B2	4	5	09
	B4	6	8	14
<b>Total</b>		10	13	23
<b>Moyenne</b>		5±1,41	6.5±2,12	11.5± 3.55
Lot 2	B5	4	1	05
	B6	0	2	02
<b>Total</b>		04	03	07
<b>Moyenne</b>		2±2.82	1.5±0.70	4.66± 2.51
<b>Moyenne globale</b>		3.5± 2.51	4±3.16	7,5±5.19



Nos résultats montrent que le nombre moyen des structures récoltées pour les lots 1 et 2 est respectivement de  $11.5 \pm 3.55$  et de  $4.66 \pm 2.51$ . Nous avons noté que ce nombre moyen est semblable pour les cornes droites et gauches ( $3.5 \pm 2.51$  vs  $4 \pm 3.16$ ).

### A. Classification des structures récoltées :

#### A.1. Qualité et stade de développement des structures récoltées :

Les résultats de la classification des structures selon leur qualité et le stade de développement sont représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XX:** Qualité et stade de développement des embryons.  
Morula (M), Blastocyste (B), œuf non fécondé (NF), embryon dégénéré (D).

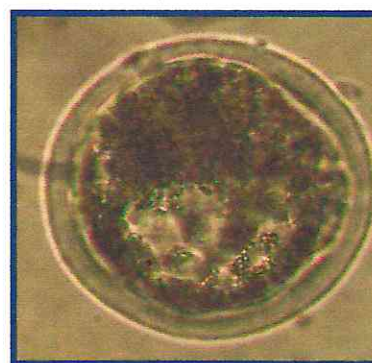
Brebis		Nombre de structures récoltées	Embryons				
			Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	
						D	NF
Lot 1	B2	09	07 (M)	00	00	02(M)	00
	B4	14	04(3M, 1B)	02(M)	00	03(M)	05
Total		23	11	02	00	05	05
Moyenne		$11.5 \pm 3.55$	$5.5 \pm 2.21$	$01 \pm 1,41$	00	$2.5 \pm 0.70$	$2.5 \pm 3.53$
Lot 2	B5	06	06(M)	00	00	00	00
	B6	03	03(M)	00	00	00	00
Total		09	09	00	00	00	00
Moyenne		$4.5 \pm 2.51$	$4.5 \pm 2.51$	00	00	00	00

Nos résultats montrent que pour :

- Le lot 1 : le nombre moyen des embryons de :
  - classe 1 est de  $5.5 \pm 2.21$  soit un taux de 47,83 %.
  - classe 2 est de  $01 \pm 1,41$  soit un taux de 08.69 %.
  - classe 4 est de  $2.5 \pm 2,08$  soit un taux de 43.48 %.
- Lot 2 : le nombre moyen des embryons de classe 1 est de  $4.5 \pm 2.51$  soit un taux de 100%.

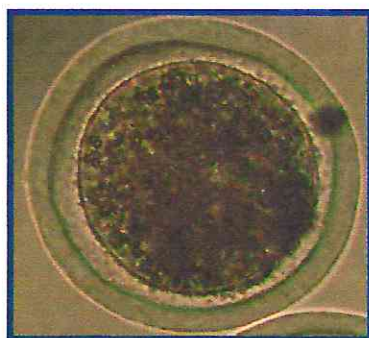


(a)

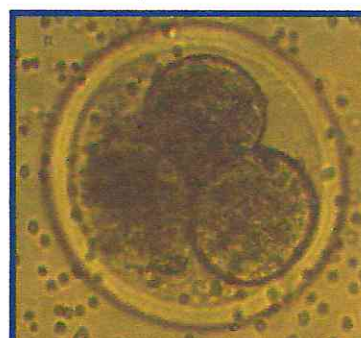


(b)

**Photo 13 :** Morula (a) et Blastocyste (b) de classe 1.



(a)



(b)

Photo 14 : Ovocyte non fécondé (a) et morula dégénéré (b) de classe 1.

**A.2. Taux des embryons transférables:**

Le tableau ci-dessous rapporte le taux des embryons transférables.

Tableau XXI: Taux des embryons transférables.

LOTS	Embryons transférables	
	Nombre	Taux (%)
Lot 1	13	56.52
Lot 2	09	100
Taux moyen	22	78.26

Nous avons constaté que le taux des embryons transférables est de:

- 56,52 % pour le lot 1.
- 100 % pour le lot 2.
- 78.26% pour l'ensemble des brebis.

**B. Taux de fécondité:**

Les résultats du taux de fécondité sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Tableau XXII: Taux de fécondité.

Brebis		Nombre de structures récoltées		Taux de fécondité %
		Embryons	Ovocytes	
Lot1	B2	09	00	100
	B4	09	05	64.28
Moyenne 1		09±00	2.5±3.53	78.26
Lot2	B5	06	00	100
	B6	03	00	100
Moyenne 2		4.5± 2.21	00	100
Moyenne globale		6.25±3.40	01.25±2.5	83.33

Les résultats du tableau montrent que le taux de fécondité moyen est de 78.26% pour le lot 1, 100% pour le lot 2 et 83.33% pour l'ensemble des brebis.

### III.2. Résultats du transfert:

#### III.2.1. Détermination du taux de gestation:

Les résultats du diagnostic de gestation sont reportés dans le tableau suivant:

**Tableau XXIII: Taux de gestation.**

Brebis	Nombre d'embryons transférés	Gestation	
		20j	35j
R1	02	+	+
R2	02	+	+
R3	02	+	+
R4	02	+	+
R5	02	+	+
<b>Total</b>	10	05	
<b>Taux de gestation</b>		100%	

Toutes les receveuses (05) ont été diagnostiquées gestantes à 20 jours puis confirmées à 35j soit un taux de 100 %.

#### III.2.2. Détermination du taux de viabilité:

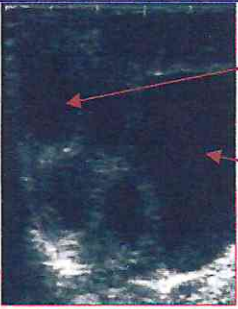


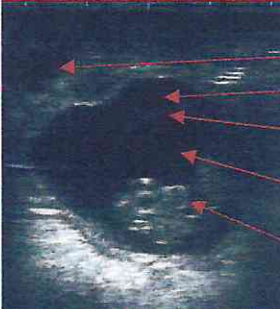

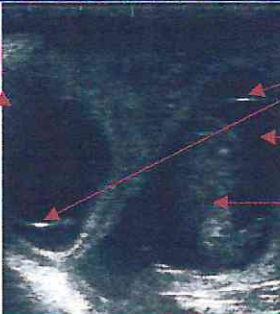
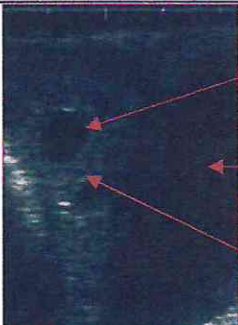


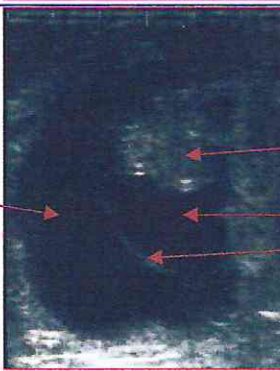
Les résultats du dénombrement des fœtus après examen échographique sont reportés dans les tableaux suivants:

**Tableau XXIV: Taux de viabilité des embryons transférés.**

Brebis	Nombre d'embryons transférés	Nombre de fœtus
R1	02	02
R2	02	02
R3	02	02
R4	02	02
R5	02	01
<b>Total</b>	10	09
<b>Taux de viabilité</b>		90%

Les résultats montrent qu'il y a 09 embryons viables sur 10 embryons transférés ce qui donne un taux de viabilité de (90%).

**Tableau XXV:** Images échographiques présentant une gestation à 20 j et une gestation gémellaire à 35 j.

Brebis	20j	Légendes	35j	Légendes
R1		<ul style="list-style-type: none"> <li>Vésicule embryonnaire</li> <li>Vessie</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Embryon 1</li> <li>Amnios</li> <li>Liquide allantoïdien</li> <li>Embryon 2</li> </ul>
R2		<ul style="list-style-type: none"> <li>Vésicule embryonnaire</li> <li>Vessie</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Embryon 2</li> <li>Liquide allantoïdien</li> <li>Amnios</li> <li>Liquide amniotique</li> <li>Embryon 1</li> </ul>
R3		<ul style="list-style-type: none"> <li>Embryon 2</li> <li>Vésicule embryonnaire</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Amnios</li> <li>Liquide amniotique</li> <li>Embryon 1</li> </ul>
R4		<ul style="list-style-type: none"> <li>Vésicule embryonnaire</li> <li>Vessie</li> <li>Corne gravide</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Liquide allantoïdien</li> <li>Embryon 2</li> <li>Liquide amniotique</li> <li>Embryon 1</li> </ul>
R5		<ul style="list-style-type: none"> <li>Liquide allantoïdien</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Embryon</li> <li>Liquide amniotique</li> <li>Amnios</li> </ul>

# DISCUSSION

## I. Evaluation de la réponse ovarienne au traitement de synchronisation et de superovulation :

### I.1. Expression des chaleurs :

#### - Chez les donneuses :

Les résultats relatifs à l'apparition des chaleurs montrent que les donneuses ont présentés des œstrus dans les **21.25±5.73 h** et **24.5±3.51 h** après le retrait de l'éponge vaginale pour les lots 1 et 2 respectivement, avec une durée moyenne de **37.25±12.28 h** et **38±8.60 h**. Cependant, aucune brebis du lot 3 n'a présentée des chaleurs. En moyenne le début des chaleurs chez l'ensemble des brebis est de **22.87±4.73 h**, alors que la durée moyenne des chaleurs est de **37.62±9.82 h**.

#### ➤ Apparition :

En effet, nos résultats sont comparables à ceux obtenus par :

- Torres et Sevellec (1987) (**24 h**) après utilisation d'une dose de « 16mg pFSH » chez des brebis Préalpes.
- Les mêmes observations ont été rapportées par José et al (2008), où l'apparition des chaleurs est en moyenne (**24h**) chez les brebis Pelibuey traitées par « 20mg de pFSH ».
- Ainsi, selon Brebion et Baril (1992), environ 85% des brebis de race Lacaune, traitées avec « 20 mg de pFSH », viennent en œstrus entre **16 et 28 h** après le retrait de l'éponge.
- Ils sont tardifs par rapport à ceux obtenus par Okada et al (2000), qui rapportent que les chaleurs sont observées à  $18.9 \pm 0.96$  chez la race South-down après un traitement de « 20mg pFSH ».
- En revanche, ils sont précoces par rapport aux résultats de Raymond et al (1981) qui ont montrés un début des chaleurs de **34.4±8.4 h** suite à l'utilisation d'un rapport de « 24mg FSH / 25mg LH » chez la race Columbia.

#### ➤ Durée :

Nos résultats montrent que la durée des chaleurs est longue par rapport à celle obtenue par Wright et al (1976) (**34,4h**), et Raymond et al (1981) (**34.4 ± 8.4 h**) chez des brebis de race Columbia traitées avec de la FSH/LH.

#### - Chez les receveuses :

Les résultats liés à l'apparition des chaleurs montrent que toutes les receveuses (100%) ont présentées des œstrus dans les **32.4±5.12 h** après le retrait de l'éponge vaginale, avec une durée moyenne de **31±3.16 h**.

#### ➤ Apparition :

Selon Brice et al (1984), (cité par Cognié, 1988) les brebis rentrent en chaleurs **30 h** après la fin de traitement avec une dose de 800 UI PMSG ce qui est précoce par rapport à nos résultats. Alors que cet intervalle (**35 h**) est légèrement supérieur lorsque la dose utilisée est la même que la notre soit 500 UI.

Cependant, nos résultats sont tardifs par rapport aux résultats de Leoni et al (2001) qui ont enregistrés des chaleurs d'une durée de **27.3 ± 4.9 h** après traitement avec « PMSG/FSH » sur des brebis Sarda.

Selon Cognié (1988), l'injection de la PMSG réduit l'intervalle fin de traitement apparition des chaleurs. Cette réduction varie de 5 à 14 h selon la dose de PMSG et la saison. En effet les femelles ayant reçues une injection de PMSG au retrait de l'éponge vaginale viennent en chaleurs au moins de **(36 h)** avec un retard de 12 h par rapport aux donneuses traitées par la pFSH d'où l'intérêt d'arrêter le traitement progestatif des receveuses avec une avance de 12 h par rapport à celui des donneuses.

➤ **Durée :**

Dans ce qui concerne la durée des chaleurs, nos résultats montrent que les chaleurs sont longues par rapport aux résultats décrits par Ptaszynska (2001), qui rapportent des signes comportementaux de l'œstrus à **24 h**. Selon le même auteur la durée normale d'œstrus est **36 h** en moyenne, mais elle peut varier, entre **18 et 72 h**, avec l'âge, la race et la saison.

L'apparition tardive des chaleurs peut être expliquée par l'effet de stress lié à la manipulation des animaux qui entraîne une élévation du taux de cortisol plasmatique et un retard du pic de LH (Gayrard, 2007).

Il est à signaler qu'on a noté une parfaite synchronisation des chaleurs entre les receveuses et les donneuses ( $32.4 \pm 5.12$  h et  $22.87 \pm 4.73$  h). L'écart toléré est ( $\pm 24$ h) (Baril et al, 1993) pour un transfert d'embryons âgés de 6 à 8 jours.

**I.2. Réponse ovarienne (nombre de corps jaunes) :**

- **Chez les donneuses :**

D'après les résultats obtenus, le nombre moyen de corps jaunes est comparable dans les deux lots 1 et 2 ( **$8 \pm 4.96$**  et  **$8.5 \pm 5.25$**  respectivement) avec un léger mieux pour le lot 2.

Il apparait que nos résultats sont proches de ceux rapportés par :

- Raymond et al (1981) qui décrits chez la race Columbia, une moyenne de ( **$8.9 \pm 5.8$**  corps jaunes) après un traitement à base de « 24mg FSH / 25mg LH ».
- Ramon et al (2008) qui rapportaient la présence de ( **$9.6 \pm 0.79$** ) chez des brebis Aragonesa après une stimulation avec « 18mg pFSH ».
- Aké-Lopez et al (2003) qui en utilisant « 25mg de pFSH » montrent que le nombre de corps jaunes chez les brebis Pelibuey est de  **$8.28 \pm 7.78$** .

Nos résultats sont légèrement supérieurs de ceux rapportés par Torres et Sevellec (1987) qui après un traitement à base de « 16mg pFSH » rapportent une réponse ovulatoire de  **$5.2 \pm 0.6$**  chez les brebis de race Corriedale.

Cependant, la réponse ovulatoire pour les deux lots est nettement faible par rapport à celle rapporté par :

- Forcada et al (2000) qui constatent de meilleurs résultats ( **$11.4 \pm 0.8$** ) pour le traitement utilisant « oFSH » chez des brebis Rasa Aragonesa.
- Gonzalez-Bulnes et al (2003) et Simonetti et al (2008) qui constataient des réponses de ( **$12.0 \pm 1.1$** ) et ( **$13.8 \pm 1.9$** ) après une stimulation à base de « eCG/FSH » chez la race Manchega et Corriedale respectivement.
- Brebion et al (1992) et Baril et al (2004) qui trouvent des réponses respectives de  **$19.2 \pm 3.4$**  et  **$20.6 \pm 10.2$**  pour le traitement utilisant « FSH/GnRH antagoniste » chez la race Lacaune.

- D'Alessandro et al (2005) ; Aké-Lopez et al (2003) et José et al (2008) qui rapportent une réponse de **11.9±1.6**, **12.41±8.10** et **10.73±1.42** corps jaunes après utilisation d'un rapport de FSH/LH décroissant et une dose de « 20mg pFSH » respectivement.

Selon Brebion et al (1992) les doses totales de pFSH préconisées chez la brebis sont comprises entre 16 et 21mg Armour, mais ces doses peuvent s'avérer soit insuffisantes, soit au contraire excessives pour certains génotypes particuliers.

En effet, des doses élevées de pFSH peuvent donner une meilleure réponse car selon Sam et al (2008), une stimulation ovarienne avec une dose de « 33mg FSHp » permet une réponse de 27 corps jaunes chez l'une des brebis superovulées (race Rombouillet).

En revanche, Torres et al (1984) rapportent que les brebis prolifiques Romanov x Préalpes présentent une meilleure réponse (**12 ± 1,5**) avec une dose de 16mg, et des résultats médiocre avec des doses de 20mg.

Nous avons constaté que les brebis du lot 3 non pas répondues au traitement ayant un rapport FSH/LH de 40%. En effet, la présence de brebis sans ou avec très peu d'ovulation constitue une des causes principales de la forte variabilité dans les rendements de superovulation. Les causes possibles peuvent être liées à une décharge préovulatoire inexistante (Gonzalez-Bulnes et al., 2003) ou à la présence de follicules non sensibles, en raison de l'inhibition des récepteurs de LH au niveau des cellules de la *granulosa* et de la thèque (Lopez-Diaz et Bosu., 1992). Aussi, l'altération de la sécrétion de LH semble être due aux fortes concentrations de LH pendant les périodes prolongées de traitement avant la décharge de LH et par conséquent altération de la capacité d'ovulation des follicules (Dobson et al., 1997).

Par ailleurs, la présence de LH dans les préparations de FSH est la cause majeure de l'anovulation (Murphy et al., 1986) l'incidence d'échec d'ovulation peut atteindre 60% avec l'usage de FSH non purifié (Gonzalez-Bulnes et al., 2000). Ces données suggèrent que l'administration d'un rapport FSH/LH constant de 40% perturbe extrêmement les fonctions endocrines et ovariennes. La réponse ovulatoire obtenue avec l'utilisation des doses de FSH décroissantes est en fait plus efficace qu'avec des doses constantes. Ces mêmes constatations ont été signalées par (Torres et Sevellec, 1987) qui rapportent qu'un rapport croissant de LH en fin de traitement améliore la réponse ovarienne. Ce rapport décalé de FSH et LH correspond sans doute mieux à l'environnement hormonal du follicule en croissance terminale et contribue à accroître l'efficacité de la superovulation.

#### - Chez les receveuses :

La réponse ovarienne au traitement de synchronisation avec injection de 500UI PMSG chez les receveuses nous a permis de révéler que 100% des brebis ont répondues positivement avec une moyenne de **1.2±0.44** corps jaunes par receveuses.

Nos résultats sont:

- Comparables à ceux rapportés par Evans et Robinson (1980) qui donne un taux de **1.2** corps jaunes avec une dose de 200UI de PMSG.
- Inférieurs à ceux obtenus par Laster et Glimp (1974) qui après 2 injections de 750UI PMSG rapportent un taux d'ovulation moyen de **1.4** et **1.6** chez la race Targhee et Suffolk respectivement.
- Inférieurs à ceux obtenus par Lunstra et Christenson (1981), qui rapportent un taux d'ovulation de **2.9** chez la race Corriedale.



Laster et Glimp (1974) ont démontrées une interaction significative (pour le taux d'ovulation) entre la dose de PMSG et la race de brebis.

### II.3. Relation entre le nombre des structures ovariennes avant la stimulation ovarienne et la réponse ovarienne au traitement de superovulation :

Les résultats de l'estimation du nombre des follicules avant de commencer le traitement de superovulation montrent que chez les lots 1,2 et 3 de brebis donneuses de race Ouled Djellal le nombre moyen des :

- Petits follicules de < 4 mm est respectivement de **8.25±3.5**, **8.5±2.88** et **6,66±3.05**.
- Gros follicules de ≥ 4 mm est respectivement de **02±1.82**, **0,25** et **0,66±1.15**.

Nous constatons que le nombre de gros follicules pour le lot 1 est supérieur à ceux des autres lots tandis que le nombre de petits follicules est comparable pour les trois lots.

Nos résultats sont comparables à ceux enregistrés par Bartlewski et al (2008) qui rapportent que le nombre moyen des petits follicules est de **7.2±0.3** au moment de la première injection de pFSH chez des brebis Rideau Arcott.

Nos résultats sont aussi similaires à ceux obtenus par Huchkowsky et al (2002) qui rapportent que chez les brebis de race Western White-Faced, le nombre moyen varie de : **7,4 ± 0,3** pour les petits follicules et **0,4 ± 0,06** à **0,8 ± 0,07** pour les gros follicules. Cependant, le nombre de petits follicules est inférieur à celui décrit par Brebion et al (1992) chez des brebis Lacaunes (**12.5** petits follicules).

Le traitement statistique de nos résultats révèle, qu'il existe une corrélation positive ( $r=0,76$ ) entre le nombre de petits follicules déterminés avant le traitement de superovulation et le nombre de corps jaunes après stimulation.

Nous avons constaté que les brebis ayant un nombre plus élevé de follicules (≥8) comme les brebis B2 et B4 (10 et 12 petits follicules respectivement) au début du traitement ont données une meilleure réponse superovulatoire en termes de corps jaunes (10 vs 14) et plus d'embryons de qualité 1 (7 et 4) respectivement, aussi les brebis avec peu de follicules (<8) comme les brebis B1 et B3 (7 et 4 petits follicules) ont présentées une faible réponse qui est de 5 et 3 corps jaunes respectivement après stimulation.

En effet, les mêmes constatations sont rapportées par:

- Gonzalez-Bulnes et al (2003) qui ont montrés que le nombre total de petits follicules (2 à 4 mm de diamètre) dans l'ovaire au début du traitement (**9.1±0.7**) a été positivement corrélé avec le taux d'ovulation ( $r = 0.591$ ).
- Gibbons et Cueto (1995) qui ont montrés une corrélation positive et comparable ( $r=0.7$ ) à la notre.
- Bartlewski et al (2008) qui ont constatés un nombre de corps jaunes comparable au notre (**9.9±2.4**) après la stimulation avec pFSH des ovaires présentant une population folliculaire de **7.2±0.3** petits follicules.

Selon Cognié et al (1999), le principal facteur limitant la réponse d'un animal à un traitement de superovulation est l'état de la population folliculaire (nombre de petits follicules) présente dans l'ovaire au moment où commence la stimulation exogène, les résultats de la présente étude montrent que la réponse de superovulation est liée à la distribution de la population folliculaire dans les ovaires avant le début du traitement d'hyperstimulation d'où la ressemblance des réponses ovariennes des deux lots malgré l'utilisation de deux doses

différentes. Ceci confirme des résultats précédents avec des préparations de gonadotrophines et des protocoles d'administration différents (Gonzalez-Bulnes et al., 2002 ; Veiga-Lopez et al., 2005).

### III. Collecte et transfert des embryons :

#### III.1. Taux de récupération :

Le taux de récupération pour les brebis du lot 1 est supérieur à celui des brebis du lot 2 (**95,33 %**, contre **50 %**).

1. Pour le lot 1 nous constatons que le taux de récupération est supérieur des taux déclarés par les études précédentes comme celles décrites par :
  - Ramon et al (2008) qui est de (**83.2%**) chez des brebis de race Aragonesa avec « 18mg pFSH ».
  - D'Alessandro et al (2005) avec un taux de (**73.1±9.0%**) en utilisant un traitement avec « FSH/LH en doses décroissantes ».
  - Gonzalez-Bulnes et al (2003) et Simonneti et al (2008) qui ont montrés des taux (**65.2 et 60.6%**) chez les races Manchega et Corriedale respectivement, après une stimulation par « pFSH/eCG ».
  - Rexroad et Powell (1991) qui montrent après un traitement de « 20mg pFSH », un taux de récolte de (**72.1%**) sur des brebis saillies naturellement.

Le taux de récolte obtenu dans notre étude est peut être dû au nombre réduit de femelles récoltées ou encore à la technique de récolte choisis.

2. Pour le lot 2 les résultats obtenus sont insatisfaisants par rapport aux résultats présentés par :
  - Torres et Sevellec (1987) (**82.2%**) après application de « 16mg pFSH » chez la race Préalpe.
  - Brebion et al (1992) et Baril et al (2004) avec des taux (**67.5 et 76%** respectivement) après un traitement « pFSH/GnRH » appliqué sur des brebis Lacaune.

Notre résultat est proche à ceux de Leoni et al (2001) qui ont montrés un taux de récupération de (**59.9%**) chez les brebis de race Sarda après un traitement cocktail « eCG/FSH ».

Cependant, ils sont supérieurs par rapport aux résultats de Rexroad et Powell (1991) qui ont trouvés après une IAU, un taux de récolte de (**39.4%**).

Concernant le nombre moyen des structures collectées obtenu dans notre étude pour les deux lots (**7,5±5.19**) est comparable avec celui obtenu par Forcada et al (2000) (**7.3±0.6**), et légèrement inférieur par rapport à celui obtenu par Gonzalez-Bulnes et al (2003) qui est de (**8.3 ± 1.1**).

#### III.2. Taux de fécondité :

Avec des taux respectifs de **78.26%** et **100%**, pour les lots 1 et 2 ; nous constatons que les brebis du lot 2 présentent une fécondation supérieure et extrêmement satisfaisante. Malgré que le taux de fécondité moyen (**83.33%**) pour les deux lots soit légèrement inférieur par rapport au taux obtenu par Baril et al (2004) (**90 %**) nous le considérons comme satisfaisant. Parce que Baril et al (1991) rapportent qu'une saillie réalisée dans de bonnes conditions produit fréquemment plus de **80%** d'œufs fécondés. Aussi, Baril et Vallet (1990) montrent que ce pourcentage peut être diminué en contre saison (**75%**).

Quant au taux de fécondité moyen (pour les deux lots) assez satisfaisant (**83.33%**) est dû à la présentation de la brebis au bélier fertile au moment opportun de la fécondation, une fois à la 48ème heure après le retrait des éponges et une autre fois à 60ème heure, en respectant un ordre de passage inverse, ce qui offre la possibilité à toutes les brebis d'avoir une quantité et une qualité de sperme plus ou moins égale.

### III.3. Nombre et qualité des embryons :

Il s'agit d'un dernier élément conditionnant la qualité d'une récolte, en effet, pour que celle-ci soit satisfaisante, les embryons doivent être de bonne qualité pour pouvoir être transférés. Pour apprécier ce paramètre, deux éléments sont importants : le pourcentage d'embryons transférables pour chaque traitement, et le nombre moyen d'embryons transférables par brebis récoltée.

L'examen au microscope, nous a permis de dénombrer en moyenne **11.5± 3.55** et **4.5±2.51** structures pour les lots 1 et 2 respectivement parmi ces structures nous enregistrons que pour :

- Le lot 1 : Le nombre moyen d'embryons transférables obtenu est de **5.5±2.21** de classe 1 et **01±1,41** de classe 2, soit un taux de **56,52 %**.
- Lot 2 : Le nombre moyen des embryons de classe 1 est de **4.5±2.51** soit un taux de **100%**.
- L'ensemble des brebis **78.26%**.

Nous constatons que les brebis du lot 2 présentent un taux supérieur de celui des brebis du lot 1 en termes de nombre d'embryons transférables.

Cependant, le nombre moyen d'embryons transférables obtenu ici est comparable à ceux obtenus par :

- Forcada et al (2000) après utilisation de « 176UI oFSH » sur des brebis Rasa Aragonesa sont obtenus un nombre de **5.0 ± 0.6**.
- Leoni et al (2001) et Gonzalez et al (2003) qui rapportent un nombre moyen de **4,9±1,03** et **5.6±0.9** respectivement.
- Simonetti et al (2008) qui rapportaient un nombre de **5.4±1.6** d'embryons transférables chez des brebis Corriedale superovulées avec un cocktail « eCG/FSH ».

Ce nombre est inférieur de celui rapporté par Baril et al (2004) qui ont obtenus un nombre moyen de **12.0 ± 7.8** chez des brebis Lacaune stimulées par « FSH/GnRH antagoniste ».

Cependant, Une nette différence est notée, en comparant nos résultats avec ceux de Bartlewski et al (2008) qui rapportent que le nombre d'embryons transférables n'est que **2.5±1.0** avec un traitement associant de la « pFSH/eCG ».

En termes de taux d'embryons transférable, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Cordeiro et al (2003) qui rapportent un taux de (**67,4%**) d'embryons transférables (de classe 1 et 2).

Ce taux (**78.26%**) est inférieur par rapport aux résultats de Torres et Sevellec (1987) qui rapportaient un taux de (**86.6%**) chez des brebis Préalpe soumises à un régime de « 16mg pFSH ».

La variation de la qualité des embryons peut s'expliquer principalement par le recrutement en début de protocole de superovulation des follicules datant des vagues

précédentes (follicules persistants). Ces follicules fourniront au moment de leur ovulation un ovocyte souvent de mauvaise qualité. L'utilisation d'un protocole de synchronisation des chaleurs à base de progestagènes administrés pendant une longue période (14 jours) accentue ce risque de recrutement de follicules des vagues précédentes.

Cette étude nous a permis de constater que les résultats pour les deux lots étaient globalement satisfaisants ; cependant, nous avons pu observer que le lot 1 fournissait significativement plus de morulas que le lot 2. Ceci nous permet donc de conclure que le lot 1 donne des résultats quantitativement supérieurs que le lot 2. Tandis que le lot 2 est qualitativement meilleur que le lot 1.

#### **IV. Résultats de transfert :**

##### **IV.1. Taux de gestation :**

Le taux de gestation obtenu dans notre étude est de **100%**, ce taux très satisfaisant est supérieur à celui obtenu par Ishida et al (1997) qui rapportent que le taux de gestation est de **38.9%** avec des embryons frais après un transfert laparoscopique. Il est supérieur aussi au taux cité par Baril et al (1993) qui est de **70 à 75 %** après transfert. Cela s'explique par une bonne maîtrise du protocole de superovulation employé ici, ainsi que la méthode de récolte qui prouve leur efficacité.

Aussi, on admet que les taux de gestation après transfert sur les jeunes animaux sont plus élevés que les adultes. Toute fois, les meilleurs résultats de gestation sont obtenus lorsque les donneuses et les receveuses sont synchrones (Baril et al, 1991).

##### **IV.2. Taux de viabilité :**

L'examen échographique au 35ème jour après transfert montre qu'il y a 09 embryons viables sur 10 embryons transférés soit un taux de viabilité de (**90%**), mais le jour de naissance nous avons constaté que les brebis R1 et R4 ne donnent naissance qu'un agneau au lieu de deux et que semble être la conséquence d'une mortalité embryonnaire tardive *in utero*. Cette dernière peut être expliquée par l'effet de l'âge de la receveuse, sa note d'état corporel et nutritionnel durant les 5 mois de gestation et surtout par le stress induit particulièrement par le froid (saison hivernale) et les manipulations pendant les sciences de travaux pratiques.

Ce taux est généralement comparable à celui cité par Brebion et al (1992) qui est de **92%**, après un traitement à base de pFSH sur des brebis Lacaune.

Selon Vallet et al (1991), la survie des embryons chez les receveuses fertiles étant de **80%**, la survie moyenne de l'embryon frais transféré est de **65%**.

En fin il faut signaler, que le jugement visuel des embryons donne une estimation très imparfaite de leur viabilité réelle (Brebion et al, 1992).

CONCLUSION

## CONCLUSION :

Notre expérimentation à porter sur l'une des biotechnologies embryonnaires les plus récentes, c'est la superovulation et le transfert embryonnaire, son principe est de multiplier le nombre de descendants d'une brebis de haute valeur génétique comme le cas de la race Ouled Djellal, la plus importante en termes d'effectif et la plus intéressante en termes de productivité des brebis de races locales.

L'application sur le terrain de la production et du transfert d'embryons *in vivo* permet une sélection accrue des individus (mâles et femelles) génétiquement intéressants mais la variabilité de la réponse au traitement de la superovulation reste l'inconvénient majeur d'application de cette technique, cette variabilité est influencée par divers facteurs, qui limitent son utilisation comme la dose utilisée, la race et l'état de la population folliculaire.

A travers notre étude, nous avons pu montrer que l'utilisation des doses 20 et 16 mg de pFSH chez les brebis Ouled Djellal permet d'obtenir des résultats satisfaisants même s'ils sont légèrement inférieurs à certaines données bibliographiques et que ces résultats sont en corrélation positive ( $r=0.76$ ) avec le nombre de follicules présents sur l'ovaire avant l'hyperstimulation.

Toutefois, nos résultats de collecte sont proches de ceux obtenus par les autres auteurs. Nous avons obtenu aussi un nombre moyen de  $7,5 \pm 5.19$  structures, nous avons remarqué aussi que les receveuses mixtes ont bien répondu au transfert, avec un taux de gestation de 100% et un taux de viabilité de 90%, ce qui est très satisfaisant.

Au contraire, l'utilisation d'un rapport FSHp/LHp constant (40%), ne permet pas d'améliorer les résultats.

Cependant, des problèmes spécifiques, tels que la lutéolyse précoce, n'ont pas trouvés de solution chez la brebis pour le moment et il est possible que d'autres études prennent le relais. Ainsi, il ne faut en aucun cas négliger la difficulté de la collecte, car c'est le bon déroulement de cette étape qui permet d'optimiser les bons résultats du traitement superovulatoire.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Anonyme 1:** <http://www.refer.org.ma/ovirep/cours2/gametes.htm>

**Anonyme 2:** <http://membres.lycos.fr/jbdemars/embryo/frames/gamet.htm>

**Anonyme 3:** <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Counprof/Algeria/Algerie.htm>

**Anonyme 4 :** <http://www.refer.org.ma/ovirep/cours4/fecondation.htm>

**Anonyme 5:** [http://www.gredaal.com/biodiversite/fichiers\\_biodiv/Articles%20specifiques/resources\\_anim ale s/document/Ovins\\_algerie.htm](http://www.gredaal.com/biodiversite/fichiers_biodiv/Articles%20specifiques/resources_anim ale s/document/Ovins_algerie.htm)

**Anonyme 6:** [http://www.fundp.ac.be/facultes/sciences/departements/veterinaire/recherche/centres/physiol ogie/doc/rentabilite\\_mouton.](http://www.fundp.ac.be/facultes/sciences/departements/veterinaire/recherche/centres/physiol ogie/doc/rentabilite_mouton.)

**Akbar A.M., Nett T.M., Niswender G.D. ; 1974.**

Metabolic clearance and secretion rates of gonadotrophin at different stage of the estrus cycle in ewes. *Endocrinology*, 94: 1318-1324.

**Armstrong D.T., Evans G. ; 1983.**

Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, 19: 31-42.

**Armstrong, D.T., Miller, B.G., Walton, E.A., Pfitzner, A.P., Warnes, G.M. ; 1983.**

Endocrine response and factors which limit the response of follicles to PMSG and FSH. *J. Repod. And Fert.* 67: 395-401.

**Armstrong D.T., Opawsky M.A. ; 1986.**

Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity. *Theriogenology*, (1): 135.

**Baldassarre H., Karatzas C.N. ; 2004.**

Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science*, 82 83, 255-66.

**Bari F., Khalid M., Haresign W., Murray A., Merrell B. ; 2000.**

Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET program in sheep. *Theriogenolgy*, 53: 727-742.

**Bari F., Khalid M., Wolf B., Haresign W., Murray A., Merrell B. ; 2001,**

The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, 56: 147-155.

**Baril, G., Vallet, J.C. ; 1990.**

Time of ovulations in dairy goats induced to superovulate with pFSH during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34: 303-311.



**Baril G., Brebion P., Chesné P. ; 1993.**

Manuel de formation pour le transfert embryonnaire chez la brebis et la chèvre. *FAO*, 115, ISSN 1014-1099.

**Baril G., Pougard J.L., Freitas V.F.J., Leboeuf B., Saumande J. ; 1996.**

A new method for controlling the precise time of occurrence of the preovulatory gonadotrophin surge in superovulated goats. *Therio.*, 45: 697-706.

**Baril G., Cognié Y., Belloc J.P., Briois M., Poulin N., Bouttier A., Pougard J.L., Vallet J.C., Leboeuf B., Remy B., Beckers J.F., Mermillod P. ; 2004.**

Effet de prétraitements agoniste et antagoniste de GnRH sur la production d'embryons chez la brebis et la chèvre. *Renc. Rech. Ruminants*, 11 : 373-376.

**Bartlewski P.M., Alexander B.D., King W.A. ; 2008.**

Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrous ewes. *Small Ruminant Research*. 75 : 210-216.

**Beckers J.F., Closset J.F., Maghuin-Rogister G., Hennen G. ; 1977.**

Bovine Follitropin; isolation and characterization of the native hormone and its  $\alpha$  et  $\beta$  subunits. *Biochimie*, 59: 825-831.

**Belhadi A. ; 1989.**

Analyse comparative des performances d'agneaux de race Ouled-Djellal et croisés (Mérinos X Ouled-Djellal) exploités en milieu steppique. *Thèse d'ingénieur, INA, Alger, P102.*

**Bondurant R.H., Anderson G.B., Boland M.P., Cupps P.T., Hughes M.A. ; 1982.**

Preliminary studies on bovine embryo survival for short-term storage at 4°C. *Theriogenology*, 17: 223-230.

**Bono G., Cairoli F., Tamanini., Abrate L. ; 1983.**

Progesterone, oestrogen, LH, FSH, and PRL concentrations in plasma during the estrus cycle in goat. *Reprod. Nut. Devel.*, 23 (2a), 217-222.

**Boukhliq R. ; 2005.**

Cours en ligne sur la reproduction ovine. *Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, département de reproduction animale.*

**Brebion P., Beckers J.F., Guerin Y., Boomarov. ; 1991.**

High performance of Booroola x Romanov ewes as permanent embryos donors. In: *Elsen J.M., Bodin L. and Thimonier J. (eds), Major genes for reproduction in sheep, Colloques de l'INRA n°57, 171-174.*

**Brebion P., Cognié Y. ; 1989.**

Increased superovulation in the ewe following 14 days of GnRH agonist pretreatment. *AETE, 5e Coll Sci*, p 106.

**Brebion P., Baril G., Cognié Y., Vallet J.C. ; 1992.**

Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins. *Ann Zootech*, 41: 331-339.

**Broers P. ; 1994.**

Abrégé de reproduction animale. *Edition Intervet International B.V. Pages: 06, 07, 105, 106, 109, 114, 116, 119.*

**Cahill L.P., Saumande J., Ravault J.P., Blanc M., Thimonier J. ; 1981.**

Survival of multiple pregnancies induced in the ewe following treatment with pituitary gonadotrophins. *J. Reprod. And Fert.*, 62: 141-150.

**Caraty A., Evans M., Theiry J.C., Malpax B., Chemineau P. ; 1997.**

Contrôle central de la sécrétion des gonadotrophines par les neurones à GnRH. *P* : 225-239.

**Casamitjana P. ; 2006.**

Synchronisation de la reproduction chez les ovins. *Novembre 2006, Société Nationale Des Groupements Techniques Vétérinaires, Fiche n°22.*

**Castonguay F., Dufour J.J., Laforest J.P., Deroy L.M. ; 1996.**

Synchronisation de l'œstrus chez la brebis avec un analogue de la GnRH. *Recherches sur les ruminants, 4-5 Décembre, Paris, 3* : 199.

**Chellig R. ; 1992.**

Les races ovines algériennes. *Office des publications universitaires. P: 9, 48, 49, 50, 53, 55, 57, 60, 63, 64, 65, 66.*

**Chemineau P., Blanc M., Caraty A., Bruneau G., Mmonget P. ; 1999.**

Productions animales. *INRA Juillet 1999, volume 12 N° 3. P: 219.*

**Cognié Y., Pelletier J. ; 1976.**

Preovulatory LH release and ovulation dry in lactating ewes after progestagen and PMSG treatment during the seasonal anoestrus. *Ann. Biol. Bioch. Bioph*, 16: 529-536.

**Cognié Y., Chupin D., Saumande J. ; 1986.**

The effect of modifying the FSH/LH ratio during the superovulatory treatment in ewes. *Therio.*, 25 : 148.

**Cognié Y., Scaramuzzi R.J. ; 1988.**

Les techniques physiologiques d'accroissement de la fertilité et de la prolificité chez les ovins. *Actes du 3ème Congrès Mondial de Reproduction et Sélection des Ovins et Bovins à Viande, Ed. INRA, Paris, 2*, 623-636.

**Cognié Y. ; 1999.**

State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51: 105-116.

**Cognié Y., Baril G., Poulin N., Beckers J.F. ; 2000.**

The ovulation rate obtained after a superovulatory treatment associating GnRH antagonist and pFSH is highly repeatable. *In Proc 16 th Mtg Ass Eur Trans Emb.(AETE), 130 abstr.*

**Cognié Y., Baril G. ; 2002.**

Le point sur la production et le transfert d'embryons obtenus *in vivo* et *in vitro* chez la brebis et la chèvre. *INRA Prod. Anim.*, 15 (3), 199-207.

**Cognié Y., Baril G., Poulin N., Mermillod P. ; 2003.**

Current Status of embryo technologies in sheep and goat. *Published in Theriogenology*, 59:171-188.

**Cognié J., Baril G., Touzé J-L., Petit J-P. ; 2007.**

Suivi coelioscopique des corps jaunes cycliques chez la brebis. *Revue Méd. Vét.*, 158, 8-9, 447-451.

**Cordeiro M.F., Lima Verde D.B., Lopes-Junior E.S., Teixeira D.I.A., Farias LN., Salles H.O., Simplício A.A., Rondina D., Freitas V.J.F. ; 2003.**

Embryo recovery rate in Sant Ines ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. *Laboratory of physiology and control of reproduction. Faculty of veterinary. State university of Ceara. Fortaleza, Brazil, CE 60740-000.*

**Courot M., Volland-Nail P. ; 1991.**

Productions animales. *INRA Février volume 4 N° 1. Pages: 22, 23.*

**Craplet C., Thibier M. ; 1980.**

Le mouton. *Édition Vigot. P: 160-266.*

**D'Alessandro A., Martemucci G., Colonna M.A., Cafueri C., Todega F. ; 1997.**

Some affects of adding pLH in defined amounts to purified pFSH to modify FSH/LH ratios during the superovulatory treatment of anoestrus ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 91-98.

**D'Allessandro A.G., Martemucci G., Taibi L. ; 2005.**

How the FSH-LH ratio and dose number in the pFSH administration treatment regimens and insemination schedule affect superovulatory response in ewes. *Istituto sperimentale per la zootecnia, via Napoli, Segesia, 71020 Foggia, Italy.*

**Del Campo C.H., Salas F., Gatica R., Del Campo M.R. ; 1985.**

Different methods of superovulation using Horse Anterior Pituitary extract (HAP) in goats during breeding season. *Therio.*, 23 (1):186.

**Dingwall W.S., McKelvey W.A.C., Mylne J., Simm G. ; 1993.**

An evaluation of MOET in Suffolk sheep. *Anim. Prod.* 56:444.

**Dobson H., Campbell B.K., Scaramuzzi R.J. ; 1997.**

Use of a GnRH antagonist in conjunction with low amplitude, high frequency LH pulses to induce follicular growth without an LH surge and ovulation in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, 46: 213-222.

**Donaldson, L.E. ; 1984.**

Embryo production in superovulated cows: Transferable embryo correlated with total embryos. *Theriogenology*, 21 : 517-524.

**Driancourt M.A., Philipon P., Locatelli A., Jaques E., Webb R. ; 1988.**

Are differences in FSH concentrations involved in the control of ovulation rate in Romanov and Ile de France ewes ? *J. Reprod. And Fert.* 83: 509-516.

**Driancourt M.A., Fry R.C. ; 1992.**

Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, 27: 279–292.

**Dudouet C. 2003.**

La production du mouton. 2<sup>ème</sup> édition. *Edition France agricole*. P: 60-263.

**Dupouy J.P., Boison J., Deschaux P., Legrand C., Picon L.O. ; 1992.**

Hormones et grandes fonctions. Tome 1. Édition Marketing, Paris.

**E.S.A.K. Tunisie. ; 1998.**

Maîtrise de la reproduction et l'insémination artificielle des ovins. *Actes du cours national organisé par E.S.A.K (Ecole supérieure d'Agriculture du Kef) du Tunisie en collaboration avec l'O.E.P. 24-29 avril*. P: 07-37.

**Evans G., Armstrong D.T. ; 1984.**

Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fertil*, 70 : 47-53.

**Evans G., Robinson T.J. ; 1980.**

Control of fertility in sheep endocrine and ovarien response to progestagen – pmsg treatment in the breeding season and in anoestrus. *J. Agric. Sci.* 94: 69-88.

**Fontaine M., Cadore JP. ; 1995.**

VADE MECUM du vétérinaire. *Edition Vigot*, p 1672.

**Forcada F., Lozano J.M., Abecia J.A., Zuniga O. ; 2000.**

Repeated superovulation of high prolificacy Rasa Aragonesa ewes before culling as an inexpensive way to obtain high quality embryos. *Livest. Prod. Sci.* 66: 263–269.

**Gayraud V. ; 2007.**

Physiologie de la reproduction des mammifères. *Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse*. Septembre, P : 68.

**Gibbons A.E., Cueto M.I. ; 1995.**

Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. *INTA EEA Bariloche Centre Regional Patagonia Norte*.

**Gilles Raymond. ; 2006.** Physiologie Animale,

**Gilbert. O.S., Hoehn T., Lewis P.E., Inskeep E. K. ; 1999.**

Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anoestrous ewes. *J. Anim. Sci.*, 79:1120-1131.

**Gonzalez-Bulnes A., Garcia-Garcia R.M., Souza C.J.H., Santiago-Moreno J., Lopez-Sebastian A., Cocero M.J., Baird D.T. ; 2002.**

Patterns of follicular growth in superovulated sheep and influence on endocrine and ovarian response. *Reprod. Domest. Anim.* 37: 357–361.

**Gonzalez-Bulnes A., Garcia-Garcia R.M., Castellanos V., Santiago-Moreno J., Ariznavarreta C., Dominguez V., Lopez-Sebastian A., Tresguerres J.A.F., Cocero M.J. ; 2003.** Influence of maternal environment on the number of transferable embryos obtained in response to superovulatory FSH treatments in ewes. *INRA, Reprod. Nutr. Dev.* 43: 17–28.

**X Gonzalez Stragnaro C. ; 1984.**

Reproduction des ruminants en zone tropicale. *Colloque de l'INRA*, 20 : 1.

**X Gordon I. ; 1975.**

Hormonal control of reproduction in the sheep. *Proc. Br. Soc. Anim. Prod.* 4: 79–93.

**X Hansel W., Convey E.M. ; 1983.**

Physiology of the estrus cycle. *J. Anim. Sci. (Suppl.2)*, 57: 404-412.

**Hanzen C. ; 2008.**

Maitrise du cycle des petits ruminants. *Université de liège, Belgique, Cours de l'année*

**Harkat S., Lafri M. ; 2007.**

Effet des traitements hormonaux sur les paramètres de reproduction chez des brebis «OULED-DJELLAL». *Courrier du Savoir – N°08, Juin 2007, pp.125-132.*

**Huchkowsky S.L., Bartlewski P.M., Rawlings N.C. ; 2002.**

Ovarian follicular development and endocrine function in non-prolific Western White Face ewes with early or late onset of seasonal anestrus. *Small Rumin. Res.* 46: 191–199.

**Ishida N., Jung Yeon-Gil., Itagaki R., Okada M., Ogiso T., Ishikawa D., Fukui Y. ; 1999.**

Non-Surgical Transfer of Fresh or Frozen-Thawed Ovine Embryos by Laparoscopy. *J. Reprod. Dev.* 45: 289–293.

**Ishwar A.K., Memon M.A. ; 1996.**

Embryo transfer in sheep and ewes and fewer recovered ova and fertilized embryos goats. a review. *Small Ruminant Res.* 19: 35–43.

**Jabbour H.N., Ryan J.P., Evans G., Maxwell W.M.C. ; 1991.**

Effects of season, GnRH administration and lupin supplementation on the ovarian and endocrine responses of Merino ewes treated with PMSG and FSH-P to induce superovulation. *Reprod. Fert. Dev.*, 3: 699-707.

**José H.C., J. Ricardo A.L., Juan Carlos K.V., Gary L.W., Jorge Alfredo Q.F. ; 2008.**

Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas suplementadas con acidos grasos poliinsaturados., *Tec Pécu Méx.*, 46(2):107-117.

**Kayouach. ; 2004.**

Cours de physiologie de la reproduction. *Département des sciences vétérinaire, Elkhroub, Constantine.*

**Khan . ; 1994.**

Examen échographique de la brebis et de la chèvre. In : atlas de diagnostic échographique. *Édition Maloine, Paris, 186-210.*

**Kolb Erich. ; 1975.**

Physiologie des animaux domestiques. *Édition Vigort et frères. Paris., Pages: 623-667.*

**Kraemer D.C. ; 1989.**

Embryo collection and transfer in small ruminants. *Theriogenology, 31: 141-148.*

**Laster D.B. et Glimp H.A. ; 1974,**

L'influence of breed on response to exogenous hormones in estrus and anoestrus ewes. *J. ANIM. SCI, 39: 1129-1135.*

**Lefevre A. ; 1992.**

Synchronisation des chaleurs et superovulation chez la chèvre. Comparaison de 2 prostaglandines : l'etiproston et le croprosténol. *Th. Méd. Vét., Nantes, n°67.*

**Leoni G., Bogliolo L., Pintus P., Ledda S., Naitana S. ; 2001.**

Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower *in vitro* viability after vitrification than those derived from FSH treatment. *Reprod. Nutr. Dev. 41: 239-246.*

**Lindner G.M., Wright R.W.J. ; 1983.**

Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology, 20: 407-416.*

**Lopez-Diaz M.C., Bosu W.T.K. ; 1992.**

A review and update of cyclic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology, 37 :1163-1183.*

**Lunstra D.R. et Christenson R.K. ; 1981.**

Fertilization and embryonic survival in ewes synchronised with exogenous hormones during the anoestrus and estrus season. *J ANIM. SCI, 53: 458-466.*

**Lyngset O. ; 1964.**

Physiology of reproduction in goats. *Nord. Veter. Med., 16.*

**Monniaux D., Mandon-Pépin B., Monget P. ; 1999.**

L'atrésie folliculaire, un gaspillage programmé. *Médecine/Sciences, 15 : 157-66.*

**MAP. ; 2004.**

Ministère de l'agriculture et de la pêche (direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information),

**Menouba S. ; 2003.**

Cours d'embryologie. *Département des sciences vétérinaires, Elkhroub, Constantine,*

**Monniaux D., Mandon-Pépin B., Monget P. ; 1999.**

L'atrésie folliculaire, un gaspillage programmé. *Médecine/Sciences, 15 : 157-66.*

**Mori Y., Kano Y. ; 1984.**

Changes in plasma of LH, progesterone and œstradiol in relation to the occurrence of luteolysis, estrus and time of ovulation in Shiba goat. *J. Reprod. Fert., 72. 223-230.*

**Murphy B.D., Mapletoft R.J., Manns J. ; 1984.**

Viability in gonadotrophin preparation as factor in the superovulatory response. *Therio., 21 (1) : 117-125.*

**Niar A. ; 2001.**

Maîtrise de la reproduction chez les ovins en Algérie. *Thèse en vue d'obtention de diplôme de doctorat en reproduction animal. Université Senia. Oran.*

**Ouattara I. ; 2001.**

Gestion de la reproduction dans un élevage ovin. *Institut agronomique & vétérinaire Hassan II, Département de reproduction et d'obstétrique vétérinaire.*

**Okada A., Kamada S., Jeon Chun-Woo., Miyamoto A., Fukui Y. ; 2000.**

Incidence of abnormal Corpus Luteum in superovulated ewes. *J. Reprod. Dev. 46: 397-402.*

**Ptaszynska M. ; 2001.**

Ovine reproduction. In: PTASZYNSKA, M.: Compendium of animal reproduction. 6<sup>th</sup> Revised edn. *Intervet Int bv (The Netherlands). pp: 125-147.*

**Ramon-Ugalde J.P., Folch J., Cocero M.J., Pina-Aguilar R.E., Alabart J.L. ;2008.**

Embryo recovery from the oviduct in superovulated ewes: a method to improve MOET systems. *Czech J. Anim. Sci., 53 (4): 145–151.*

**Raymond W., Wright Jr., Bondioli K., Grammer J., Kuzan F., Menino A. ; 1981.**

FSH or FSH plus LH superovulation in ewes following estrus synchronization with MAP pessaries. *Journal of Animal Science., Vol. 52, No.1.*

**Rexroad, C. E. Jr., Powell A. M. ; 1991.**

FSH injections and intrauterine insemination in protocols for superovulation of ewes. *J. Anim. Sci. 69:246-251.*

**Ricordeau G., Bouillon J., Gaillard A., Lajous A., Lajou D. ; 1984.**

Modalités et caractéristiques de la reproduction chez les caprins. *Aspects génétiques. B.T.I., 391, 367-383.*

**Rientort. ; 1995.** Abrège. *Physiologie Animale 2: les grandes fonctions.*

**Robertson I., Nelson R.E. (IETS). ; 1998.**

International Embryo Transfer Society guide. Chapter 9. Certification and identification of the embryo., 3rd edition. Savoy II: IETS, 170p.

**Roux M. ; 1986.**

Alimentation et conduite de troupeau ovin. *Technique Agricole*, 3-18.

**Ruckebusch Yves. ; 1981.**

Édition MALOINE S.A. Physiologie et pharmacologie thérapeutique animales. 2ème édition. Pages: 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 248, 265.

**Sam E.C., Lynn Nix., Frank A.H. ; 2008.**

Lambing rate as influenced by hormone-induced superovulation in ewes prior to mating. *J. Anim. Sci.* 27:431-433.

**Saumande J. ; 1995.**

La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation ? *INRA Prod. Anim.*, 8: 275-284.

**Simonetti L., Forcada F., Rivera O.E., Carou N. Alberio R.H., Abecia J.A., Palacin I. ; 2008.** Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 104: 227-237 .

**Smith C.L. ; 1984.**

Dose effect of follicle stimulating hormone for superovulation of crossbred Targhee ewes. *Therio.*, 21: 262.

**Soltner D. ; 2001.**

Zootecnie générale Tome I. La reproduction des animaux d'élevage. *Collection sciences et techniques agricoles*. 3<sup>ème</sup> édition. p: 29, 39, 41, 67,75.

**Stolkowski J. ; 1974.**

Endocrinologie des vertébrés. *Édition Paris librairie VUILBERT*. Pages: 107-178.

**Tervit H.R., Goold P.G. ; 1984.**

*Theriogenology*, 21:268 abstr.

**Thibault C., Levasseur M.C. ; 1979.**

La fonction ovarienne chez les mammifères. *Édition MASSON, Paris, P:* 09-42.

**Thibault C., Levasseur M.C. ; 2001.**

La reproduction chez les mammifères domestiques et l'homme.

**Thompson J.G.E., Smpson A.C., James R.W., Tervit H.R. ; 1990.**

The application of progesterone containing CIDR devices to superovulated ewes. *Therio.*, 33: 1297-1304.



**Tibary A., Manar S. ; 1988.**

Factors affecting estrus synchronization in two Moroccan breeds of sheep. *Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination*. 1: 462.

**Torres S., Cognie Y., Colas G. ; 1984.**

Transfert des embryons chez les ovins. *IX Journées de la recherche ovine et caprine*, Ed. INRA-ITOVIC-SPEOC, Paris, 215-239.

**Torres Suzanne., Sevellec Claude. ; 1987.**

Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 27 (4): 859-863.

**Turries V. ; 1976.**

Les populations ovines algériennes. *I.N.A, Alger*. 26p.

**Vaissaire J.P. ; 1977.**

Sexualité et reproduction des mammifères domestiquer et du laboratoire. *Edition Maloine S.A. Paris*.

**Vallet J.C., Casamitjana P., Brebion P., Perrin J. ; 1991.**

Techniques de production, de conservation et de transfert d'embryons chez les petits ruminants. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 167 : 293-301.

**Walker S.K., Smith D.H., Seamark R.F. ; 1986.**

Timing of multiple ovulation in the ewe after treatment with FSH or eCG with or without GnRH, *J. Reprod. Fertil.* 77: 135-142.

**Whitley N.C., Jackson D.J. ; 2004.**

An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *Journal of Animal Science*, 82: 270-276.

**Wolf B.T., Mylne M.J.A. ; 1994.**

Influence of age of donor ewe on MOET in Texel sheep, in *Proc. British Soc. Anim Prod*, 86.

**Wright R.W., Anderson G.B., Cupps P.T., Drost M., Bradford G.E. ; 1976.**

In vitro culture of embryos from adult and prepubertal ewes. *J. Anim. Sci.* 42: 912-917.

**Youngquist R.S. ; 1997.**

Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 1st edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 898p.

**Zidane K. ; 1999.**

Suivie clinique et histologique des paramètres de la reproduction chez la brebis. *Thèse en vue d'obtention du grade de magister en médecine vétérinaire*.

# ANNEXES

## ANNEXES 1

Rendement de production d'embryons chez les brebis superovulées.  
(D : donneuses ; CJ : corps jaune ; Er : embryons récoltés ; Et : embryons transférables ; Nb : nombre, Tx : taux)

Référence	Raymond et al, 1981	Torres et Sevellec, 1987	Brebion et al, 1992	Forcada et al, 2000	Leoni et al, 2001	Gonzalez-Bulnes et al, 2003	Baril et al, 2004	Ramon et al, 2008	Simonetti et al, 2008
<b>Nb donneuses</b>	14	18	14	113	23	36	22	37	13
<b>Race</b>	Columbia	Préalpes	Lacaune	Rasa Aragonesa	Sarda	Manchega	Lacaune	Aragonesa	Corriedale
<b>Protocole Synchronisation/ Superovulation</b>	24mg FSH / 25mg LH	40mg FGA/ 16mg pFSH	FSH/ GnRH Antagoniste	30mg FGA/ oFSH	FGA/eCG/ FSH	40mg FGA/ PMSG/ FSH	40mg FGA / GnRH Antagoniste	30mg FGA/ 18mg pFSH	500 UI eCG / oFSH
<b>Méthode de récolte</b>		Chirurgie		Chirurgie	Chirurgie	Chirurgie	Chirurgie	Chirurgie	Chirurgie
<b>Intervalle fin synchro-œstrus (h)</b>	34.4 ± 8.4	24			27.3 ± 4.9				25.4±2.0
<b>Nb CJ / D (m ± SD)</b>	8.9 ± 5.8	5.2 ± 0.6	19.2 ± 3.4	11.4 ± 0.8	11.8 ± 4.0	12.0 ± 1.1	20.6 ± 10.2	9.6 ± 0.79	13.8±1.9
<b>Tx de Récolte (%) Nb Er / Nb D (m ± SD)</b>	(70)	(82.2)	(67.5)	7.3 ± 0.6	(59.9)	(65.2) 8.3 ± 1.1	(76)	(83.2)	60.6
<b>Tx Embryons Transférables (%) Nb Et / Nb D (m ± SD)</b>		(86.6)	(81) 10.6	5.0 ± 0.6	4.9 ± 1,03	5.6 ± 0.9	(85) 12.0 ± 7.8	(73.5)	5.4±1.6

## ANNEXE 2

Résultats de superovulation obtenus avec différentes doses de pFSH.

<b>Auteurs</b>	D'Alessandro et al, 2005	José et al, 2008	Ramon et al, 2008	Torres et Sevellec, 1987	Aké-Lopez et al, 2003	
<b>Race</b>		Pelibuey	Aragonesa	Préalpe	Pelibuey	
<b>Type de Traitement</b>	FSH/LH décroissant	pFSH	pFSH	pFSH	pFSH	FSH/LH décroissant
<b>Dose</b>	4 doses	20mg	18mg	16mg	25mg	8 doses
<b>Apparition de l'œstrus</b>		24 h				
<b>Nb de corps jaunes</b>	11.9±1.6	10.73±1.42	9.6±0.79	5.2±0.6	8.28±7.78	12.41±8.10
<b>Tx de récolte</b>	73.1±9.0	4.18±1.36	83.2	88.2	7.57±5.86	6.25±5.69
<b>Nb d'embryons transférables</b>	97.9±7.9	3.09±1.36	5.9±0.79	4±0.7	6.28±4.79	4±4.86